Aus der Medizinischen Klinik A der
Universität in Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. W. Schneider

DIE STIMULATIONSFÄHIGKEIT DES RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERON-SYSTEMS BEI PATIENTEN MIT EINGESCHRÄNKTER NIERENFUNKTION

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Hans Martin Klein

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536504_0140

Aus der Medizinischen Klinik A der
Universität in Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. W. Schneider

DIE STIMULATIONSFÄHIGKEIT DES RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERON-SYSTEMS BEI PATIENTEN MIT EINGESCHRÄNKTER NIERENFUNKTION

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Hans Martin Klein

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf.

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. G. Arnold

Referent:
gez.: Prof. Dr. E. Schnurr

Korreferent:
gez.: Prof. Dr. R. Böcker

INHALT

		Seite
1.	Einleitung und Fragestellung	2
2.	Patienten und Methoden	4
2.1	Bestimmung der Plasma Renin-Aktivität	9
2.2	Bestimmung der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration	18
2.3	Bestimmung der Plasma-Aldosteron-Konzentration	25
2.4	Bestimmung des Serum-Kreatinins	33
2.5	Bestimmung von Kalium und Natrium im Serum	33
2.6	Bestimmung von Kalium und Natrium im Urin	33
2.7	Statistische Auswertung	34
3.	Ergebnisse	36
3.1	Plasma-Renin-Aktivität, Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und Plasma-Aldosteron-Konzentration unter dem Einfluß von Furosemid	36
3.2	Systolischer und diastolischer Blutdruck unter dem Einfluß von Furosemid	38
3.3	Kalium und Natrium im Serum unter dem Einfluß von Furosemid	38
3.4	Kalium und Natrium im Urin unter dem Einfluß von Furosemid	38
3.5	Kreatinin und Kreatinin-Clearance unter dem Einfluß von Furosemid	38
3.6	Der Einfluß des Geschlechts auf die Plasma-Renin-Aktivität, die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und die Plasma-Aldossteron-Konzentration	39
3.7	Der Einfluß der medikamentösen Therapie auf die Plasma-Renin-Aktivität, die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und die Plasma-Aldosteron-Konzentration	39
4.	Diskussion	53
5.	Schlußfolgerung	60
6.	Zusammenfassung	61
7.	Literatur	62

1. Einleitung und Fragestellung

Aufrechterhaltung des Blutdrucks, konstantes Volumen und konstante ionale Zusammensetzung von Plasma und Extrazellulärflüssigkeit sind Voraussetzungen der Hömöostase.
Die Niere ist in der Lage, über die Regulation von Natrium und Wasser auf das Plasmavolumen, das extrazelluläre Volumen und den Blutdruck Einfluß zu nehmen.
Dieser Regelkreis wird vorwiegend hormonell über Aldosteron gesteuert (LUETSCHER, 1954). Dabei kontrolliert Aldosteron die Natriumausscheidung, die eng mit der Wasserausscheidung gekoppelt ist (WERNING, 1972).
Die Synthese des Aldosterons aus Cholesterin über Pregnenolon und Corticosteron wird von einer Vielzahl von Faktoren beeinflußt (Müller, 1971).
Der initiale Syntheseschritt wird von Angiotensin-II, von Kalium und von ACTH positiv beeinflußt. Im weiteren Verlauf der Aldosteronsynthese kommt dem Kalium- und Natrium-Bestand neben weiteren, unbekannten Faktoren eine wichtige Rolle in der Regulation der Synthese zu.
In diesem komplexen Steuermechanismus hat unter pysiologischen Verhältnissen die Angiotensin-II-Bildung aus Angiotensin-I durch das in der Niere gebildete Enzym Renin eine zentrale Bedeutung.
Renin besitzt in diesem Regelkreis die Aufgabe eines Mediators zwischen den Meßgrößen in der Niere und der Regelgröße Aldosteron.
Über die Auslösung der Reninfreisetzung existieren zwei Theorien:
Die Macula-densa Theorie (VANDER, 1964,THURAU, 1965) besagt, daß die ionale Zusammensetzung der Tubulusflüssigkeit für die Reninsekretion verantwortlich ist.
Die Dehnungsrezeptor Theorie (TOBIAN, 1960) beinhaltet, daß eine Änderung der Wandspannung der vasa afferentia der Niere die Reninfreisetzung reguliert.

Bei der Niereninsuffizienz liegen andere Verhältnisse vor, bei denen das Renin-Angiotensin-System wahrscheinlich nur eine untergeordnete Rolle spielt (SCHNURR, 1976).

Die Erfüllung der Aufgaben der Niere werden mit Fortschreiten der Erkrankung erschwert. Da nicht alle Nephren gleichermaßen geschädigt werden, übernehmen verbleibende, funktionstüchtige Nephren die Aufgabe der zugrundegegangenen Nephren (BRICKER, 1972).
Dies setzt eine besondere Anpassungsfähigkeit der suffizienten Nierenrindenbezirke an die veränderten Filtrationsverhältnisse voraus.
Da die Natriumaufnahme meist nicht wesentlich eingeschränkt werden kann, müssen die intakten Nephren bei insgesamt insuffizienter Niere mit sinkender glomerulären Filtrationsrate mehr Natrium ausscheiden.
Hohe Natriumkonzentrationen im distalen Tubulus der Niere stimulieren wiederum über eine Reninausschüttung die Aldosteronsekretion, mit dem Ziel der Gegenregulation.
BRICKER entwickelte unter Berücksichtigung des urämischen Endstadiums bei chronischer Niereninsuffizienz die sogenannte "trade-off"-Hypothese.
Sie beinhaltet, daß die einerseits bis an die Leistungsgrenze der verbleibenden Nephren gesteigerte Natriumausscheidung andererseits eine Retention von Urämie-Toxinen zur Folge hat. Diese Toxine haben nach BRICKER Hormoncharakter und tragen entscheidend zur Symptomatik der Urämie bei.
Über den Steuermechanismus der Natriumausscheidung bei der chronischen Niereninsuffizienz liegen noch keine genauen Kenntnisse vor.

Die vorliegende Arbeit geht der Frage nach, ob bei der chronischen Niereninsuffizienz die Reninfreisetzung über Natriumentzug durch forcierte Diurese stimuliert werden kann und welche Folgereaktionen eintreten.
Außerdem soll diskutiert werden, welche anderen Regulationsmöglichkeiten bezüglich des Aldosterons bei der chronischen Niereninsuffizienz bestehen und ob eine Rückkopplung zwischen Natrium, Wasser und Aldosteron besteht.

2. Patienten und Methoden

Das Untersuchungsgut umfaßte lo männliche und lo weibliche Patienten. Das Durchschnittsalter betrug 5o,4 ± 2,0* Jahre. Alle Patienten wiesen eine chronische Niereninsuffizienz in verschiedenen Stadien auf:

Stadium der kompensierten Retention (18 Pat.),
Stadium der beginnenden Retention (1 Pat.),
Terminalstadium (1 Pat).

Sämtliche Patienten wurden in der Medizinischen Klinik A der Universität Düsseldorf ambulant behandelt und wurden im Rahmen einer Routine-Kontrolle für die vorliegende Studie untersucht.

Vor und während der Untersuchung hielten die Patienten keine besondere Diät ein und waren nicht natriumbilanziert, die weiblichen Patienten nahmen keine Ovulationshemmer ein. Bei allen Patienten wurde am Vortag der Untersuchung über 24 Std. Urin gesammelt und Volumen, Natrium, Kalium und Kreatinin bestimmt und die Kreatinin-Clearance errechnet. Die Untersuchung umfaßte am Test-Tag die Blutdruckmessung, sowie die Renin-, Angiotensin-II-, Aldosteron-, Kalium-, Natrium- und Kreatininbestimmung jeweils vor und 3 Std. nach Furosemid-(Lasix)-Belastung.

Um den Einfluß des zirkadianen Rhythmus der renalen Renin-Freisetzung zu verringern, wurden für alle Patienten gleiche Blutentnahmezeiten eingehalten (ARMBRUSTER et al., 1975, VETTER et al., 1976).

Die Blutentnahme erfolgte morgens zwischen 8.30 Uhr und 9.00 Uhr am nüchternen Patienten aus der Cubitalvene. Zu diesem Zeitpunkt sind die höchsten Plasma-Renin- und Plasma-Aldosteron-Konzentrationen zu erwarten. Dann wurde dem Patienten 40 mg Furosemid (Lasix) i. v. gegeben. Der Patient konnte während der nächsten 2 1/2 Std. das Klinikgebäude verlassen. Die Flüssigkeits- und Nahrungsaufnahme wurde für diese Zeit nicht beschränkt.

Vor jeder Blutentnahme mußte vom Patienten eine 30 min. Ruhepause auf einer Liege eingehalten werden.

* Alle Mittelwerte wurden mit dem Standardfehler des Mittelwertes (S.E.M.) angegeben.

Alter, Geschlecht und, soweit bekannt, Grundkrankheiten und Komplikationen wurden in Tabelle 1 aufgeführt. Die von den Patienten regelmäßig eingenommenen Medikamente wurden in folgende sieben Gruppen eingeteilt:

1 = Betablocker
2 = Alphablocker
3 = Vasodilatatoren
4 = Aldosteronantagonisten
5 = Steroide
6 = Digitalis
7 = Saluretika

Die sogenannten Alphablocker sind Substanzen, die die Katecholaminwirkung an der glatten Muskulatur hemmen. Der Angriffsort dieser Medikamente sind hypothetische Alpharezeptoren, welche neben den Betarezeptoren als Vermittler der adrenergen Wirkung angenommen werden.

Eine Übersicht über die medikamentöse Therapie der untersuchten Patienten gibt Tabelle 2.

Tabelle 1: Name, Alter, Geschlecht der untersuchten Patienten, sowie Grundleiden und Komplikationen soweit bekannt.

Nr.	Pat.	Alter	Geschl.	Grundleiden und Komplikationen
1	L.,K.	66	m	Terminale N.I.bei chron. Pyelonephritis, renale Hypertonie, Vorderwandinfarkt 1974.
2	M.,F.	45	m	Chron. N.I. art. Hypertonie, Magenulcera 1978, Proteinurie seit 1974.
3	G.,H.	39	w	Chron. N.I.
4	B.,P.	57	m	Chron. N.I., art. Hypertonie, Splenomegalie, renale Anämie, Thrombektomie Nierenarterie rechts u. Ligatur.
5	H.,K.	42	m	Chron. N.I., Anämie, Hodenseminom.
6	K.,E.	49	w	Chron. N.I.,Cystenniere.
7	L.,G.	61	m	Chron. N.I. bei pyelonephritischer Schrumpfniere, renale Anämie, Nierenbeckenpapillom.
8	S.,H.	65	m	Chron. N.I., Nephrektomie rechts.
9	W.,S.	55	w	Chron. N.I. bei chron. Pyelonephritis, Hypertonie.
10	W.,U.	42	w	Chron. N.I., renale Hypertonie,Nephrosklerose, Diabetes mell.
11	Z.,W.	60	m	Chron. N.I. bei chron. Glomerulonephritis.
12	K.,O.	52	w	Chron. N.I. bei chron Pyelonephritis, Cystenniere bds., rezidiv. Cystitiden.
13	W.,A.	50	m	Chron. N.I. nei Penacetinabusus, Hypertonie, Blasendivertikel.
14	S.,S.	59	w	Chron. N.I., art. Hypertonie, Ablatio mammae rechts.
15	V.,E.	47	m	Chron. N.I., maligne Hypertonie, Nephrektomie re. 1953, Infarkt.
16	B.,E.	55	w	Chron. N.I., Hinterwandinfarkt 1977, stumme Niere li.,art. Hypertonie.
17	F.,U.	43	w	Chron. N.I. mit nephrotischem Syndrom bei Amyloidniere, Colitis ulcerosa, Morbus Bechterew.
18	S.,H.	36	w	Chron. N.I., rezidiv. Cystitis.
19	P.,L.	44	w	Chron. N.I. bei Phenacetinabusus, renale Hypertonie, Adipositas.
20	B.,D.	40	m	Chron. N.I., Hypertonie.

Tabelle 2: Übersicht über die durchgeführte medikamentöse Therapie der untersuchten Patienten zu Zeitpunkt der Untersuchung.

Patient		Medikament-Gruppe
1	L.,K.	1,2,6
2	M.,F.	1,3
3	G.,H.	3
4	B.,P.	2,3
5	H.,K.	-
6	K.,E.	-
7	L.,G.	6
8	S.,H.	1,2,6
9	W.,S.	6
10	W.,U.	1,2,3,6,7
11	Z.,W.	6
12	K.,O.	6
13	W.,A.	1,6
14	S.,S.	1,2,3,6
15	V.,E.	6
16	B.,E.	2,6
17	F.,U.	4,5
18	S.,H.	-
19	P.,L.	1,6
20	B.,D.	1,2,3,6

Bei der Bestimmung der Plasma-Renin-Aktivität, der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und der Plasma-Aldosteron-Konzentration wurde ein Radioimmunoassay (RIA) als Bestimmungsmethode eingesetzt (Krause et al., 1978, JAFFE et al, 1974).

Folgende Forderungen müssen dabei erfüllt werden:

1. Die zu untersuchende Substanz muß antigene Eigenschaften besitzen und muß radioaktiv zu markieren sein.
2. Es muß ein spezifischer Antikörper zur Verfügung stehen.

3. Das freie, nicht an den Antikörper gebundene Antigen muß von dem an den Antikörper gebundenen Antigen chemisch oder physikalisch zu trennen sein.

Diese Bedingungen konnten für die vorliegenden Untersuchungen erfüllt werden.

Prinzip:
Zunächst wird unmarkiertes Patientenantigen und markiertes Antigen mit einem spezifischen Antikörper versetzt. Markiertes und unmarkiertes Antigen konkurrieren dabei um eine begrenzte Anzahl von Bindungsstellen am Antikörper. Mit steigender Menge an antigener Untersuchungssubstanz sinkt damit die Menge der an Antikörper gebundenen Aktivität. Die gebundene Aktivität wird nach Abtrennung des freien Antigens gemessen.
Mit einer bekannten Antigenkonzentration wird eine Standardkurve erstellt, die es ermöglicht, die gemessenen Aktivitäten einer unbekannten Probe einer definierten Antigenkonzentration zuzuordenen.

2.1 Bestimmung der Plasma-Renin-Aktivität.

Bisher sind verschiedene Methoden beschrieben worden, die Renin-Aktivität im Plasma zu bestimmen (SCHRÖDER, 1969, BECKERHOFF et al., 1975).
Heute hat sich das radioimmunologische Verfahren aufgrund seiner Spezifität und einfachen Durchführbarkeit anderen, älteren Methoden gegenüber durchsetzen können (HABER, 1969, CHEVRU, 1972, GOLDBERG, 1973, FYHRQUIST, 1976).
In der vorliegenden Untersuchung wurde die radioimmunologische Bestimmung von Angiotensin-I im Plasma mit dem Radioimmunoassay Kit von Schwarz/Mann durchgeführt.
Prinzip:
In gekühltem Plasma (0-2° C) wurde durch Pufferung auf pH 7,4 die unspezifische Spaltung von Angiotensinogen in Angiotensin-I unterbunden und durch Zugabe von Converting-Enzym-Inhibitoren und Plasma-Angiotensinasen die Umwandlung von Angiotensin-I in Angiotensin-II verhindert.
Obwohl der kinetisch günstige pH-Bereich für das Enzym Renin (EC-Nr. 3.4.9914) bei pH 5,5 bis 6,5 liegt, wurde der physiologische pH 7,4 gewählt, um die Versuchsbedingungen den tatsächlichen Verhältnissen in vivo anzugleichen (OPARIL, 1974).
Trotz der dadurch leichten Hemmung der enzymatischen Aktivität des Enzyms ergab sich aufgrund der hohen Spezifität des verwendeten Angiotensin-I-J125 und der hohen Assoziationskonstanten des Angiotensin-I-Antikörpers bei einem Vergleich der Radioimmunoassay-Werte (HABER, 1969) mit Bio-Assay-Werten (SKINNER, 1967) ein Korrelationskoeffizient von r=0,97.

Die für Renin spezifische Angiotensin-I-Bildung erfolgte durch Inkubation bei 37° C für genau 3 Stunden.
Hierbei war die Angiotensin-I-Bildung bei niedrigen, normalen und hohen Plasma-Renin-Werten linear.
Die Counts pro Minute in den unbekannten Proben wurden über eine Standardkurve den entsprechenden Angiotensin I-Werten in pg/mlxh zugeordnet.
Das Maß für die Renin-Aktivität im Plasma war die Menge Angiotensin-I, die von Renin aus endogenem Angiotensinogen gebildet wurde.

Materialien:

Der Renin-Aktivität Radioimmunoassay Kit (J 125) Becton, Dickinson GmbH, 69 Heidelberg, Best.-Nr.:202118, enthält folgende Reagenzien:

(ausreichend für 400 Einzelbestimmungen)

1. 8-Hydroxychinolin-Lösung, 0,34 M.
   Pro Fläschchen 2ml gebrauchsfertige Lösung, bei 2-8° C lichtgeschützt lagern. (Best.-Nr.:218413)
2. Dimercaprol, 2%ige Lösung (w/v) in Benzylbenzoat.
   Pro Fläschchen 2 ml gebrauchsfertige Lösung , bei 2-8° C fest verschlossen lagern.
   (Best.-Nr.:218111)
3. Tris-Chlorid-Puffer, 4,0 m, pH 7,2.
   Pro Fläschchen 10 ml gebrauchsfertige Lösung. Maximal 2 Monate haltbar, bei 2-8 Grad C lagern. Anmerkung: Ein eventuell auftretender Niederschlag kann durch vorsichtiges Erwärmen der Lösung wieder in Lösung gebracht werden. (Best.-Nr.: 218316)
4. Tris-Acetat-Puffer-Konzentrat, 2,5 M.
   Pro Fläschchen 10 ml, bei 2-8° C lagern, ins gesamt 4 Fläschchen.(Best.-Nr.:218219)
5. Lysozym, Reinheitsgrad fur Radioimmunoassay, isoliert aus Eiweiß, frei von Peptidase-Aktivität (14). Pro Fläschchen 650 mg, bei 2-8° C lagern. (Best.-Nr.:217913)
6. a) (Asp 1, Ile 5), Angiotensin I Standardlösung A, 4,0 $\pm$ 0,08 ng/Fläschchen. (Best.Nr.:210412)
   b) (Asp 1, Ile 5), Angiotensin I Standardlösung B, 25,0 $\pm$ 0,50 ng/Fläschchen. (Best.-Nr.:210528)
   Das Lyophilisat enthält Tris-Acetat-Puffer, Lysozym und Konsevierungsmittel.
7. (Asp 1, Ile 5) Angiotensin I (125 J), Lyophilisierte Zubereitung, enthält Tris-Acetat-Puffer, pH 7,4 $\pm$ 0,05, Lysozym und Konservierungsmittel. Pro Fläschchen 0,87 $\pm$ 0,07 Micro-Curie, ausreichend für 100 Einzelbestimmungen, insgesamt 4 Fläschchen, bei 2-8° C lagern. (Best.-Nr.: 209911)

8. Angiotensin I-Antiserum vom Kaninchen,
Lyophilisat enthält Tris-Acetat-Puffer, Lysozym und Konservierungsmittel. Angegebener B-o: 55 ± 15 %, insgesamt 4 Fläschchen, bei 2-8° C lagern.
(Best.-Nr.:210315)

9. Dextranbeschichtete Aktivkohle (1:10)
mit Phosphat-NaCl-Trockenmischung. Jedes Päckchen enthält:
0,125 g Dextran 80
1,250 g Aktivkohle
0,278 g di-Kaliumhydrogenphosphat
0,055 g Natriumhydrogenphosphat 1-hydrat
1,750 g NaCl
Insgesamt 3 Päckchen, bei 2-8° C lagern,
(Best.Nr.: 218014)

Gebrauchslösungen für den Assay:

1. 0,1 M Tris-Acetat-Puffer, pH 7,4 ± 0,05:
1 Fläschchen (= 10 ml) Tris-Acetat-Puffer-Konzentrat, 2,5 M, in einen 250 ml Meßkolben mit Aqua bidest. quantitativ überführen, auffüllen mit Aqua bidest. bis zur Eichmarke.
Keine pH-Kontrolle erforderlich.
Lagerung: 2-8° C
Stabilität: 1 Monat max.

2. 0,1 M Tris-Acetat-Puffer mit 0,1 % Lysozym:
100 mg Lysozym (Reagenz Nr. 5) in 100 ml Tris-Acetat-Puffer lösen.
Lagerung: 2-8° C
Stabilität: 3 Wochen max.

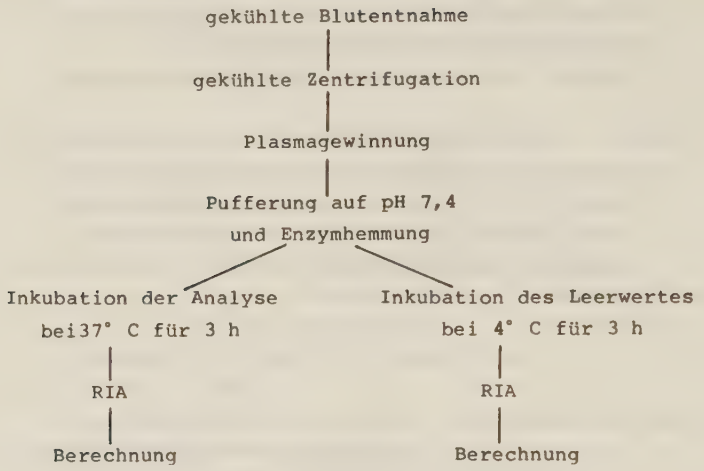
3. (Asp1, Ile5) Angiotensin I-Standard A (Reagenz 6 A)
Lyophilisat mit 5,0 ml Tris-Acetat-Puffer 0,1 M unter vorsichtigem Mischen auflösen, (Volumenpipette verwenden, Schaumbildung vermeiden).
Konzentration: 0.8 ng Angiotensin I/ml.
Lagerung: kann eventuell eingefroren werden bei -20° C.
Stabilität: Max. 2 Mon.

4. (Asp1 , Ile5) Angiotensin I-Standard B (Reagenz 6 B)
   Herstellung des gebrauchsfertigen Standards wie bei Standard A.
   Konzentration: 5,0 ng Angiotensin-I/ ml..
   Lagerung und Stabilität: Siehe bei Standard A.

5. (Asp1 , Ile5), Angiotensin I (125 J) als Tracer:
   Lyophilisat (Reagenz 7) mit 10,0 ml Tris-Acetat-Puffer (20° C) unter vorsichtigem Mischen auflösen, (Volumenpipette verwenden, Schaumbildung vermeiden.) 10 ml Tracer reichen für 100 Einzelbestimmungen.
   Lagerung: kann eventuell bei -20 Grad eingefroren werden.

6. Dextranbeschichtete Aktivkohle-(DCC)-Suspension:
   1 Päckchen der vorgewogenen DCC-Mischung (Reagenz 9) in 200 ml Aqua bidest. wie folgt suspendieren:
   Die DCC-Suspension wird 15 Min. mit einem Magnetrührer im Eiswasserbad (0-4° C) gemischt.
   Auch 5 Min. vor und während des Gebrauchs muß die Suspension ständig gerührt werden.
   Lagerung: Bei 2-8° C.
   Stabilität: Max. 2 Mon.

Durchführung der Analyse:



1. Blutentnahme und Plasmagewinnung:
Unmittelbar nach Punktion der Vene wurden 7,0 ml Blut in einem gekühlten Di-Natrium-Äthylendiamintetraacetat-Röhrchen entnommen. Die Probe wurde sofort gut durchmischt und in ein Eisbad gestellt. Die Di-Natrium-EDTA-Endkonzentration soll 1,4 mg/ml betragen.
Die Probe wurde in einer vorgekühlten Kühlzentrifuge (2-4° C) bei 850 - 1000 g (entspricht 2000 U.p.M. bei r= 18 cm) zentrifugiert und im Eisbad dekantiert.
Von jeder Plasmaprobe wurden je 1,5 ml Plasma in 2 Polystyrol-Röhrchen abpipettiert.
(Konnte das Plasma nicht sofort weiterverarbeitet werden, wurde es bis zur späteren Analyse bei -20° C eingefroren.)

2. Enzym-Hemmung und Pufferung auf pH 7,4:
Im Eisbad in ein Polystyrolröhrchen (16 x 100 mm, Fa.Greiner) pipettieren:

1 ml Plasma, kalt, dazu die auf Zimmertemperatur gebrachten Lösungen:
0.01 ml 8-Hydroxychinolin-Lösung (Reagenz Nr. 1, Konzentration im Plasma: 3.4 mM)
0,01 ml Dimercaprol (Reagenz Nr. 2, Konzentration im Plasma: 1,6 mM)
0,10 ml 4-M-Tris-Chlorid-Puffer (Reagenz Nr. 3)

gut mischen, Röhrchen verstopfen.

3. Inkubation:
Der obige Ansatz wurde für exakt 3 Stunden bei 37° C inkubiert. Die Inkubation wurde abgebrochen durch Überführung des Ansatzes in ein Eisbad.
Ein gleichzeitig mitgeführter Kontrollansatz mit Inkubation bei +4° C zeigte keine Aktivität.
Die Kühlung wurde beschleunigt durch Schütteln der Röhrchen im Eisbad. Die Probe mußte bis zum Ansatz des Assays bei 2-4° C gehalten werden.

4. Assay:
Vorbemerkung: Der Tris-Acetat-Puffer mußte während des Gebrauchs kalt gehalten werden. Für jede Anylysenserie muß ein Standardkurve erstellt werden, um gleiche Reaktionsbedingungen zu gewährleisten. Die einzelnen Standardwerte wurden in Doppelansätzen bestimmt, für jede Plasma-Probe wurden in 6 Analysen 3 x 10 µl und 3 x 50 µl Plasma eingesetzt, um hohe und niedrige Angiotensin-I-Aktivität messen zu können.

Polystyrolröhrchen wurden wie folgt fortlaufend nummeriert:

Nr. 1 bis 18 für die Standardwerte,

Nr. 19 bis 24 für die erste Plasmaprobe,

Nr. 25 bis 30 für die zweite Plasmaprobe usw.

Alle folgenden Schritte müssen im Eisbad durchgeführt werden:

1. Pipettierschema für die Standardreihe:

Röhrchen-Nr.:	1/2	3/4	5/6	7/8	9/10	11/12	13/14	15/16	17/18
0,1 M Tris-Acetat-Puffer +0,1% Lysozym (ml)	1,9	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Standard A (µl)				25	50	100			
Standard B (µl)							25	50	100
Angiotensin I (J 125)	100 µl in jedes Röhrchen einpipettieren, vorsichtig mischen.								
Angiotensin I-Antiserum	100 µl in jedes Röhrchen, mischen und Röhrchen verschließen.								
Angiotensin-I Konzentration in ng/Röhrchen				0,02	0,04	0,08	0,125	0,25	0,5

2. Pipettierschema für die Analysen-Reihe:

Röhrchen-Nr.:	19	20	21	22	23	24	
0,1 M Tris-Acetat-Puffer +0,1% Lysozym	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	(ml)
Plasma, bei 37° C inkubiert	50	50	50	10	10	10	(µl)
Angiotensin I (J 125)	100 µl in jedes Röhrchen einpipettieren, vorsichtig mischen.						
Angiotensin I-Antiserum	100 µl in jedes Röhrchen, mischen und Röhrchen verschließen.						

Die Röhrchen der Standard- und Analysenreihe wurden für 20 bis 24 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt.

Im Eisbad wurden außer in die Röhrchen 1 und 2 je 1,0 ml kalte, resuspendierte DCC-Suspension mit einer Kolbenpipette schnell zur besseren Durchmischung eingespritzt.
Alle Röhrchen wurden gleichzeitig bei 1240 g für 12,5 Minuten in einer vorgekühlten Zentrifuge bei 2-4 ° C zentrifugiert. Der Zeitraum zwischen Zugabe der DCC-Suspension und der Zentrifugation darf 3 Minuten nicht überschreiten.

Die Aktivität in den Röhrchen 1 und 2 sowie im Überstand aller anderen Röhrchen wurde im Gamma-Counter bestimmt.

Qualitätskontrolle:

Leerwert:
Der Nullwert der Standardkurve zeigte keinen Unterschied zu Leerwertproben,bei denen Wasser anstelle von Plasma eingesetzt wurde. Da jedoch keine Extraktion der Analysensubstanz durchgeführt wurde, sondern der Leerwert direkt im Plasma bestimmt wurde, könnten falsch positive Werte durch unspezifische Reaktionen mit dem Antikörper die Ergebnisse verfälschen.

Präzision:
Es stand kein Kontroll-Plasma für die Renin-Bestimmung zur Verfügung. Zur Kontrolle wurden 2 verschiedene Poolplasmen eingesetzt. Die Intra-Assay-Varianz betrug 2,79 % (n = 19), die Inter-Assay-Varianz betrug 8,02 % (n = 40).

Richtigkeit:
Die Linearität wurde durch halbstündige Bestimmung des Angiotensin I während der dreistündigen Inkubationszeit bei Plasmen mit hoher und niedriger Renin-Aktivität überprüft. Die Wiederfindungsrate von Angiotensin I in einem Plasma-Pool mit definiertem Angiotensin I-Gehalt betrug 93,08 ± 3,8 % (n = 5).

Reproduzierbarkeit:
Die Reproduzierbarkeit wurde kontrolliert durch den Vergleich von Mittelwert und Standardabweichung bei 10 Eichkurven, die innerhalb eines halben Jahres erstellt wurden.

Empfindlichkeit:
Die Empfindlichkeit, ausgedrückt als kleinste Angiotensin I-Menge, die noch vom Nullwert der Eichkurve unterschieden werden kann, betrug bei obiger Methode 0,02 ng Angiotensin-I.

Spezifität:
Nach BECTON und DICKINSON, Orangeburg, N. Y., ließ sich keine Kreuzreaktion zwischen dem eingesetztenAngiotensin-I Antikörper und Angiotensin-II feststellen.

Normalwerte:
Die Plasma-Renin-Aktivität ist bei Gesunden von verschiedenen Faktoren abhängig (Tageszeit, Körperlage, Natriumbilanz). Bei 10 gesunden Männern (40,9 ± 2,3 J.) wurde eine mittlere Plasma-Renin-Aktivität von 0,7 ± 0,13 ng/ml Plasma x h nach einer zweistündigen Liegezeit und einer nicht natriumbilanzierten Diät bestimmt.

2.2. Bestimmung der Plasma-Angiotensin-Konzentration:

Viele Autoren haben Methoden für die Angiotensin-II Bestimmung beschrieben (BOYD, 1967, DÜSTERDIECK, 1971). Die heute üblichen radioimmunologischen Methoden unterscheiden sich in der Angiotensinase-Hemmung, der Trennung des gebundenen und freien Hormons, sowie der Extraktion des Angiotensin-II aus dem Plasma.
KÜPPERS et al., 1967 entwickelten eine vereinfachte Bestimmungsmethode. Hierbei erfolgte die Extraktion des Angiotensin-II aus dem Plasma mit Fullererde, als Antikörper wurde ein hochspezifisches Angiotensin-II-Antiserum eingesetzt und zur Angiotensinasehemmung wurde der bereits 1971 von DÜSTERDIECK und MC ELWEE beschriebene Proteinasehemmer benutzt.

Prinzip:
Im frisch entnommenen Blut wird der Abbau des Angiotensin-II durch Vorgabe des Proteinasehemmers unterbunden und das Angiotensin-II nach Bindung an Fullererde aus dem Plasma abzentrifugiert.
Ein Methanol-Ammoniak-Wasser-Gemisch löst diese Bindung und die Fullererde wird abzentrifugiert. Durch Eindampfen der Probe wird das Methanol-Ammoniak-Gemisch entfernt und die verbleibende wässrige Phase wird gefriergetrocknet.
Das im Rückstand verbleibende Angiotensin-II wird in Phosphat-Puffer aufgenommen und mittels Radio-Immuno-Assay quantitativ bestimmt.
Als Tracer dient Angiotensin-II-J125, Antikörper ist ein Angiotensin-II-Antiserum vom Kaninchen. Dextranbeschichtete Aktivkohle ist das Trennmittel.

Materialien:

1. Methanol, p. a., Merck, Art. 6009
2. Ammoniak, p.a., min.25 % (0,91),Merck, Art. 5432
3. EDTA-Di-Natriumsalz (Äthylendinitrolotetraessigsäure-Dihydrat), Merck, Art. 8418
4. O-Phenantrolin
5. Fuller Erde, rein, gewaschen, Serva Heidelberg, Art.21940
6. Di-Nariumhydrogenphosphat-2-hydrat, Na2HPO4 x 2H2O, p. a., Merck, Art. 6580
7. Natriumchlorid, p. a., Merck, Art. 64o4
8. Lysozym (Muramidase) aus Hühnereiweiß, kristall., (Hydrochlorid), Boehringer Mannheim, Best.-Nr. 107255
9. Angiotensin-II Standard, 1 mg (Asp1, Ile5),Angiotensin-II Becton, Dickinson & Co., Cat.No. 901389, Lot.No.Zy1319
10. Angiotensin-II Antiserum (rabbit), 5 mg Bovine gamma-Globulin and 5 mg Neomycin, (Lyophilized preparation), Schwarz/Mann, Orangeburg,N.Y., Cat.No. 0753-19
11. Angiotensin-II(J-125-Thyrosin),(Tracer), sepz. Akt. 10 uC (New England Nuclear Chemicals GmbH, Boston, Mass.) Best. Nr. NEX-105
12. Dextran, RIA-grade, Schwarz/Mann, Cat.No. 0752-05, Lot. No. 296-211 A
13. Aktivkohle, RIA-grade, Schwarz/Mann, Cat. No. 0752-13

Gebrauchslösungen:

1. Proteinase-Hemmer:

	0,125	M EDTA	(MG 372,2)
	0,025	M O-Phenantrolin	(MG 180,2)
	1,0	l Aqua bidest.	
+	0,2	% Neomycinsulfat	

2. Phosphat-Standard-Puffer, pH 7,4:

	0,15	M NaCl	(MG 58,44) -- 8,766 g/l
	0,01	M Na2HPO4	(MG 358,14) -- 3,584 g/l

3. Phosphat-Puffer und Lysozym:

Standard-Puffer (Lösung 2)
+ 0,1 % Lysozym (Reagenz 6) einwiegen.

4. Standard A 50 pg A-II/ml,
" B 1 ng A-II/ml:

1 mg Angiotensin-II (Reagenz 8) in 100 ml Puffer (Lösung 2) lösen,(=10 ug/ml), davon

1 ml in 100 ml Puffer (Lösung 2) geben, (=100 ng/ml), davon

1 ml in 100 ml Puffer (Lösung 2) geben (= 1 ng/ml).

5. J-125-Angiotensin-II (Tracer):
Ampulleninhalt in 10 ml Puffer (Lösung 2) geben.

6. Dextranbeschichtete Aktivkohle:

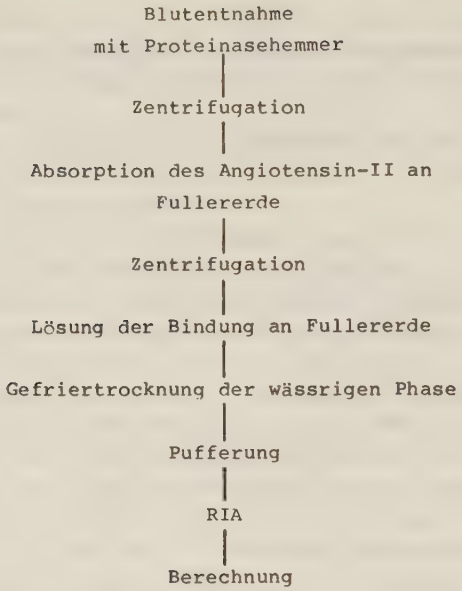
0,125 g	Dextran	(Reagenz 11)
1,250 g	Holzkohle	(Reagenz 12)
ad 100,000 ml	Puffer	(Lösung 2)

7. Methanol-Ammoniak-Wasser-Gemisch:

70 Teile Methanol	(Reagenz 1)
30 Teile Ammoniak	(Reagenz 2)

8. Angiotensin-II-Antikörper:
Inhalt eines Fläschchens mit 5 ml Puffer (Lösung 2) vorsichtig mischen.

Durchführung der Analyse:



1. Blutentnahme und Plasmagewinnung:
In eine 20 ml Einmalspritze wurde 1 ml Proteinase-Hemmer vorgegeben. Bis zur Marke 20 wurde Blut aufgezogen und sofort gemischt. Zwei Plastikröhrchen wurden je 10 ml Blut gefüllt und bei 2500 g für 10 Min. zentrifugiert. Das Plasma wurde mit einer Kolbenpipette vorsichtig abgehoben und genau 10 ml Plasma wurde bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

2. Absorption an Fuller Erde:
Die Proben wurden bei 25° C aufgetaut, erneut zentrifugiert und das Plasma wurde in nummerierte Röhrchen umgeschüttet. Jede Plasmaprobe wurde mit 20 mg Fuller Erde versetzt und für 3 Min. geschüttelt.
Dann wurde die Fuller Erde bei Raumtemperatur für 3 Min. bei 2500 g abzentrifugiert und das Plasma verworfen.

3. Extraktion aus der Fuller Erde:
Der Bodensatz wurde mit 10 ml des Methanol-Ammoniak-Wasser-Gemisches aufgeschüttelt und erneut für 5 Min. bei 2500 g zentrifugiert. Der Bodensatz wurde verworfen und der Überstand wird in einem Wasserbad bei 37° C unter Luftstrom bis auf die wässrige Phase eingedampft. Die Probe wurde lyophilisiert (Gefriertrockner Christ Beta), und bei - 25° C im Gefrierschrank gelagert.

4. Radio-Immuno-Assay:

Ansatz für die Standardkurve:
(Im Eiswasserbad pipettieren)

Rö-Nr.	Puffer-Lysozym (µl)	Standard A (µl)	Standard B (µl)	J-125-A-II (µl)	A-II-Antiserum (µl)	Dextran-Kohle (µl)
1- 3	900	--		100	---	200
4- 6	1100	--		100	---	---
7- 9	800	--		100	100	200
10-12	800	50	(2,5 pg)	100	100	200
13-15	700	100	(5 pg)	100	100	200
16-18	600	200	(10 pg)	100	100	200
19-21	400	400	(20 pg)	100	100	200
22-24	800	--	50 (50 pg)	100	100	200
25-27	700	--	100 (100 pg)	100	100	200
28-30	600	--	200 (200 pg)	100	100	200
		Probe (µl)				
31-33	600	200		100	100	200
34-36	600	200		100	100	200
usw.						

Alle Proben wurden gemischt und für 24 Std. im Kühlschrank bei 4° C inkubiert.

Alle Proben wurden für ca. 3 Min. geschüttelt und bei 4° C für 15 Min.in einer Kühlzentrifuge bei 2500 g abzentrifugiert und anschließend dekantiert.
Die Aktivität des Überstandes wurde im Gamma-Counter ermittelt.

Qualitätskontrolle:

Leerwert:
Der Plasma-Blank lag außerhalb der Empfindlichkeitsgrenze (DÜSTERDIECK, MC ELWEE, 1971). Wurde statt Wasser Aqua dest. oder Puffer in den Analysengang eingesetzt, so wurde ein Blank von 1,59 $\pm$ 0,07 pg/ml bei n = 55 Proben bestimmt.

Präzision:
Die Intra-Assay-Varianz wurde durch mehrfache Bestimmung der Angiotensin-II-Konzentration in einem Plasma-Pool bestimmt. Dabei betrug der Mittelwert 17,2 $\pm$ 1,99 pg/ml und der Variationskoeffizient 11,6 % bei n = 26 Analysen.
Die Bestimmung der Inter-Assay-Varianz war insofern schwierig, da die Angiotensin-II-Konzentration bei langer Lagerung bei -25° C anstieg. CAIN (1972) bestimmte die Inter-Assay Varianz ohne Angabe der Lagerungszeit des Plasmas, DÜSTERDIECK et al. (1971) bestimmte die Inter-Assay-Varianz nicht.

Richtigkeit:
Die Richtigkeit (GIANOTTI, 1972) wurde einmal durch Messung in Puffer bestimmt, dem zuvor 10, 15, 50 und 100 pg Angiotensin-II pro ml zugegeben wurde. Die ermittelten Werte wurden in einem Koordinatensystem auf der Ordinate gegen die Soll-Werte auf der Abszisse aufgetragen. Bei n = 15 betrug der Korrelationskoeffizient r = 0,9 bei p = 0,001 und der entsprechenden Geradengleichung y = 0,9633x - 1,1955.
Außerdem wurde die Richtigkeit durch die Bestimmung der Angiotensin-II-Konzentration in 3, 5, 7, und 10 ml Plasma eines Poolplasmas ermittelt. Die gefundenen Angiotensin-II Werte wurden auf der Ordinate gegen die eingesetzte Plasmamenge auf der Abszisse aufgetragen. Bei 19 Analysen betrug r = 0,9 bei p = 0,001. Die zugehörige Geradengleichung lautet y = 5,4205x +3,1217.

Reproduzierbarkeit:
Es wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen von 30 Standardkurven, die innerhalb eines halben Jahres erstellt worden waren, verglichen.
Die mittlere Standardabweichung aller Meßpunkte betrug dabei 3,6 % (2,0 - 5,6%).

Empfindlichkeit:
Die Empfindlichkeit, definiert als kleinste zu messende Menge einer Substanz, die noch vom Nullpunkt der Eichkurve unterschieden werden kann (ABRAHAM, 1974), betrug für diese Bestimmung 3,5 pg Angiotensin-II pro Ansatz.
Die mittlere Wiederfindungsrate von 100 pg zugesetztem Angiotensin-II betrug 98,1 $\pm$ 13,9 % bei n = 25.

Spezifität:
Der verwendete Angiotensin-II-Antikörper zeigte eine Kreuzresistenz mit Angiotensin-I von unter 2,5 %. Der Antikörper unterschied nicht zwischen dem Hexa- und Heptapeptid. Nach CAIN (1972) sind die Messungen im peripheren venösen Blutplasma den Messungen im arteriellen Blutplasma gleichzusetzen.

Normalwerte:
Bei 15 gesunden, männlichen und weiblichen Personen im Alter von 21 bis 35 Jahren wurde bei nichtbilanzierter Kost und unter Ruhebedingungen im peripheren, venösen Blutplasma eine Angiotensin-II-Konzentration von 5,4 $\pm$ 2,2 pg/ml (2,6 - 10,5) ermittelt.

2.3 Aldosteronbestimmung im Plasma:

Die papierchromatografische Isolation des Aldosterons im Plasma wurde erstmals von TAIT et al. (1952), NEHER und WETTSTEIN (1955) und MOOLENAAR (1957) beschrieben.
Später wurden auch die Säulenchromatografie und die Dünnschichtchromatografie eingesetzt.
AYRES (1957) verwendete erstmals radioaktiv markiertes Aldosteron als internen Standard.
SCHNURR (1973) beschrieb eine radioimmunologische Methode zur Aldosteronbestimmung.
SCHNURR (1976) stellte ein modifiziertes Verfahren zur radioimmunologischen Aldosteronbestimmung vor. Dabei wird nach Extraktion des Aldosterons aus dem Plasma (KLIMAN und PETERSEN, 1960) eine dünnschichtchromatografische Vorreinigung angeschlossen.

Prinzip:
Plasma wurde mit einer bestimmten Menge tritiummarkiertem Aldosteron als internem Standard versetzt.
Die Extraktion der Steroidfraktion erfolgte mittels Extrelut-Fertigsäulen und Dichlormethan als Lösungsmittel (KLIMAN und PETERSON, 1960).
Der so gewonnene Extrakt wurde bei 37° C eingedampft.
Der Rückstand wurde in ein Methanol-Dichlormethan-Gemisch aufgenommen.
Zur selektiven Trennung des Aldosterons wurde die Dünnschichtchromatografie an Kieselgel DC Sil G-25 (Mackerey, Nagel und Co) durchgeführt.
Die aufgetragene Probe wurde in den Fließmitteln Methanol, Dichlormethan und iso-Butylmethylketon in je einem getrennten Arbeitsschritt entwickelt. Mit einem Dünnschichtscanner wurden die radioaktiv markierten Aldosteron-Bande auf der Platte aufgesucht und markiert. Das Kieselgel wurde an dieser Stelle quantitativ von der Platte entfernt und das Aldosteron mittels Aceton eluiert.
Die Probe wurde eingedampft und der Rückstand wurde in Puffer (pH 7,0 $\pm$ 0,1) aufgenommen.
Im anschließenden RIA wurde der interne Standard D-Aldosteron (1,2-H3) als Tracer (JOWETT, 1973) und als spezifischer

Antikörper ein Aldosteron-Antiserum vom Schaf verwendet. Die im Liquid Scintillation Counter (PACKARD-TRICARB) gemessene Aktivität wurde über eine Standardkurve den entsprechenden Aldosteronwerten zugeordnet.
Über die Wiederfindungsrate wurde die Aldosteron-Konzentration in pg/ml Plasma berechnet.

Materialien:

1. Gelatine, Merck, Art. 4070
2. Natriumacid, NaN_3, Merck, Art. 6688
3. NaCl, p. a., Merck, Art. 6404
4. Natriumhydrogenphosphat-1-hydrat, $NaH_2PO_4 \times H_2O$, p. a., Merck, Art. 6346
5. Di-Natriumhydrogenphosphat-12-hydrat, $Na_2HPO_4 \times 12\ H_2O$, p. a., Merck, Art. 6579
6. Anti-Aldosteron (sheep 088), 5 ml in 1/100 Dilution, National Institutes of Health, dist. free by Nat. Inst. of Arthritis and Metabolic diseases, Bethesda, M. D.
7. Dextran 70, RIA-grade, Becton, Dickinson & Co., Cat. No. 0752-05
8. Kohle, RIA-grade, Becton, Dickinson & Co, Cat. No. 0752-13
9. Dichlormethan, p. a., Merck, Art. 6050
10. Methanol, p. a., Merck, Art. 6009
11. DC-Fertigplatten Sil G-25, Mackerey-Nagel & Co., 20 cm x 20 cm, Schicht 0,25 mm Kieselgel.
12. Extrelut, Fertigsäulen zur Extraktion von lipophilen Stoffen aus Körperflüssigkeit, Merck, Art. 11737
13. Äthanol, absol., p.a., Merck, Art. 972
14. Iso-Butylmethylketon zur Synthese, $C_6H_{12}O$, Merck, Art. 820820
15. Aquasol-2, New England Nuclear, Boston, Mass., Cat. No. NEF-952
16. Aldocorten (Aldosteron), Ciba, 1 Ampulle (= 1 ml) enthält 0,5 mg d-Aldosteron.
17. Zinsser Polyvials 714, Zinsser, Best.-Nr. 3071401
18. D-Aldosteron (1,2-H3), 20 uCi/ml, RIA-grade, Radioassay Systems Laboratories, Inc., Carson, Ca.

Gebrauchslösungen für den RIA:

1. Puffer A (pH 7,0 ± 0,1)
   1,0 g Gelatine (Reag. 1) wird in 500 ml warmem Aqua dest. unter Rühren gelöst.
   Lösung auf Raumtemperatur abkühlen und hinzugeben:
   1,0 g Natriumacid,
   9,0 g NaCl
   5,4 g Natriumhydrogenphosphat-12-hydrat,
   15,8 g Natriumhydrogenphosphat-1-hydrat,

   mit Magnetrührer gut mischen, und in einem 1000 ml Meßkolben bis zur Eichmarke mit Aqua dest. auffüllen. pH-Kontrolle, ev. einstellen mit 1 N NaOH.

2. Dextran-Kohle-Gemisch:
   0,625 g Kohle (Reag. 8)
   + 100,0 ml Puffer A
   gut mischen,
   0,0625 g Dextran ,
   gut mischen, Haltbarkeit: 1 Mon. bei + 4° C.

3. Aldosteron-Antikörper vom Schaf:
   75 ml Puffer A
   + 10 ul Aldosteron (Reag. 6, 1 : 100 in Puffer)
   Die Verdünnung entspricht einem Antikörpertiter von 1 : 750000.

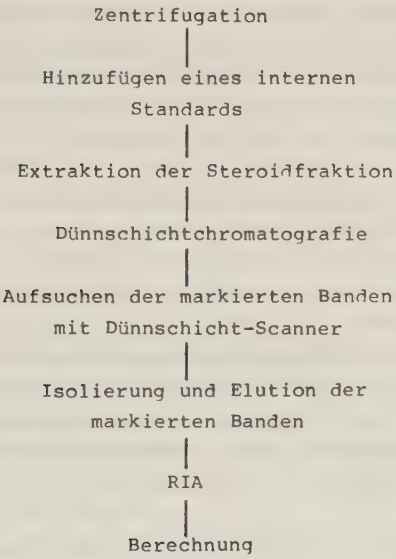
Gebrauchslösung für den Aldosteron-Standard:

   0,1 ml Aldocorten (Reag. 16)
   120,0 ml H2O
+ 5,0 ml Äthanol (Reag. 13)
   entspricht 400 ng/ml
   0,2 ml dieser Verdünnung (entspricht 80 ng) wird gefriergetrocknet und in 5 ml Puffer A aufgenommen. (entspricht 16000 pg/ml)

D-Aldosteron(1,2-H3)-Gebrauchslösung:

1,0 ml D-Aldosteron(1,2-H3) (Reag. 18) eindampfen.
Rückstand mit
7,0 ml Puffer A aufnehmen.

Durchführung der Analyse:



1. Blutentnahme und Plasmagewinnung:
Es wurden 2 mal 10 ml Blut in mit Ammoniumheparinat beschichteten Röhrchen (Sarstedt) abgenommen. Sofort nach der Entnahme wurde das Blut 5 Min. bei 2500 g abzentrifugiert und in 2 Polyäthylenröhrchen je 4 ml Plasma gegeben. Bis zur weiteren Verarbeitung wurde das Plasma bei - 20° C gelagert.

2. Extraktion der Steroidfraktion:
Das eingefrorene Plasma wurde auf Raumtemperatur gebracht und erneut 5 Min. bei 2500 g zentrifugiert.
Je nach der zu erwartenden Aldosteronkonzentration der jeweiligen Probe wurden 2 bis 5 ml Plasma zur Analyse eingesetzt.

In Szintillationsröhrchen einpipettieren:

2 - 5 ml Plasma
+ 100 ul H3-Aldosteron (Reag. 18)
gut mischen, auffüllen mit 20 ml Aqua dest.

(Zur Bestimmung der Recovery wurden 9 Röhrchen mit je 100 ul H3-Aldosteron als Null-Wert mitgeführt.)

Jeder Proben-Ansatz wurde quantitativ in eine Extrelut-Fertigsäule gegeben. Die ablaufende wässrige Phase wurde verworfen.
Nach 20 Min. wurde die Säule dreimal mit je 40 ml Dichlormethan nachgespült. Anschließend wurden die Fraktionen vereinigt.
Die Proben wurden bei 40° C eingedampft (z. B. mit dem Brinkmann Sample Concentrator und Einsatz einer Absaugvorrichtung).
Bis zur Weiterverarbeitung wurde der Rückstand in Methanol (5 ml und 2,5 ml) aufgenommen, und in Polyäthylenröhrchen im Kühlschrank aufbewahrt.

3. Dünnschichtchromatografie zur Abtrennung des Aldosterons:

a) Vorbereitung der DC-Fertigplatten Sil G-25:
Die Platte wurde durch Einritzen der Beschichtung in drei vertikale Bahnen aufgeteilt.
Sie wurde mit der Auftragfläche nach unten senkrecht in das Laufbecken gestellt.
b) Vorwaschen der Platten mit
100 ml Dichlormethan, 20 Min. trocknen, dann
100 ml Methanol, trocknen.

Die Proben wurden erneut bei 40° C eingedampft und der Rückstand wurde mit 0,9 ml eines Methanol-Dichlormethan-Gemisches (1:2) aufgenommen. Zur besseren Auflösung wurde das Lösungsmittel fraktioniert zugegeben und ein Rotationsmischer verwendet.
Mit einer 100 ul Kolbenpipette wurden die insgesamt 0,9 ml auf ein entsprechendes Feld der vorbereiteten Platten bandförmig aufgetragen.
Die Platten wurden für 1 Std. bei Raumtemperatur getrocknet.

c) Entwickeln der Platten in:
   1. 30 ml Methanol, bis sich die Bande ca. 6 cm oberhalb der Auftragstelle befinden. Hierdurch wird die aufgetragene Probe an der Laufmittelgrenze konzentriert. Sorgfältiges Trocknen der Platten
   2. 100 ml Dichlormethan bis das Fließmittel fast den oberen Plattenrand erreicht hat.
      Trocknen der Platten bei Raumtemperatur für 30 - 40 Min.,
   3. 80 ml iso-Butylmethylketon für 90 Min., Trocknung für 20 Min.

d) Im Dünnschichtscanner wurden die radioaktiven Bande identifiziert und von den Platten durch Abkratzen des Kieselgels an der markierten Stelle entfernt.
   Das für jede Probe selektiv entfernte Kieselgel wurde quantitativ gesammelt und in einem Glasröhrchen mit 6 ml Aceton versetzt.
   Nach leichtem Schütteln geht das Aldosteron in Lösung und nach Zentrifugation für 10 Min. bei 2500 g wurde der klare Überstand vollständig vom Kieselgelsediment in ein Szintillationsröhrchen abpipettiert.
   Die Proben wurden bis zur RIA-Ansatz im Kühlschrank bei + 4° C gelagert.

4. Radioimmuno-Assay:

Pipettierschema für die Standardverdünnungsreihe:

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7	8	
Puffer A		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	ml
Standard-Gebrauchslösung	2,0	1,0 es werden je 1,0 ml des vorigen Röhrchens überpipettiert.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	ml
Aldosteron in pg/ml	1600	800	400	200	100	50	25	12,5	pg

Pipettierschema für die Standardreihe:

Rö.-Nr:	Puffer (ml)	Aldost. H-3 (ml)	Standard (ml)	Anti-körper (ml)	End.-Konz. pro ml
1- 3	0,2	0,1		0,5	
4- 6	0,2	0,1		0,5	
7- 9		0,1	0,2(Rö.8)	0,5	12,5 pg
10-12		0,1	0,2(Rö.7)	0,5	25 pg
13-15		0,1	0,2(Rö.6)	0,5	50 pg
16-18		0,1	0,2(Rö.5)	0,5	100 pg
19-21		0,1	0,2(Rö.4)	0,5	200 pg
22-24		0,1	0,2(Rö.3)	0,5	400 pg
25-27		0,1	0,2(Rö.2)	0,5	800 pg
29-30		0,1	0,2(Rö.1)	0,5	1600 pg

Röhrchen gut schütteln und im Kühlschrank bei 4° C für 18-24 Stunden stehen lassen.

Proben-Ansatz:
Eindampfen der Proben von Punkt 3 d bei ca. 40° C.
Rückstand mit 1,0 ml Puffer A aufnehmen und gut mischen.

Probe	Proben-Leerwert
Dreifachbestimmung	Einfachbestimmung
0,2 ml Probenrückstand	0,2 ml Probenrückstand
0,1 ml Puffer	10,0 ml Aqua sol
0,5 ml Aldosteron-Antikörper	

Die Gefäße wurden gut verschlossen und gut geschüttelt, und 18 bis 24 Stdn. bei + 4° C inkubiert.
Damit die bestehende Antikörper-Antigenbindung bestehen blieb, mußten alle Proben- und Standard-Röhrchen auch weiterhin bei 4° C gehalten werden.
Das Dextran-Kohle-Gemisch wurde im Eisbad mit einem Magnetrührer in Aufschwemmung gehalten.

	Standardreihe		Proben (3-fach)	Proben-Leerwert
Röhrchen:	1-3	4-30	31-33	34
Puffer	0,5 ml			
Dextran-Kohle		0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
	Alle Röhrchen wurden gut gemischt und innerhalb 10 Min. bei 4° C und ca. 1000 g für 10 Min. in einer Kühlzentrifuge abzentrifugiert. Der Überstand wurde in ein Zählröhrchen gegeben.			
Aqua sol. (Reag.15)	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml

Die Messung der Aktivität (max 10.000 counts) erfolgte im Packard-Szintillation-Scanner für 10 Min.
Die in den Proben ermittelte Aktivität wurde mit der Aktivität des Standard-Lösungen verglichen und entsprechenden Aldosteron-Konzentrationen zugeordnet.
Unter Berücksichtigung der mittleren Wiederfindungsrate (48,04 $\pm$ 6,46 %) konnte die Aldosteron-Konzentration pro ml Plasma berechnet werden.

Die ausführlichen Ergebnisse der Qualitätskontrolle finden sich in der Beschreibung der Original-Methode bei SCHNURR (1976).

2.4 Bestimmung des Serum-Kreatinins:

Der Bestimmung lag die Jaffe-Reaktion mit Enteiweißung durch Pikrinsäure zugrunde.
Normalwerte: 0,8 - 1,5 mg/ml Serum.

Die Kreatinin-Clearance wurde nach der Formel $C = (U \times V)/P$ in ml/Min. angegeben, wobei

C = Plasmavolumen in ml/min.,
U = Kreatinin-Konzentration im Urin in mg/ml,
V = Harnvolumen in ml/Min. und
P = Clearance-Substanz in mg/ml Plasma bedeutet.

2.5 Bestimung von Kalium und Natrium im Serum:

Die Elektrolyte wurden flammenphotometrisch mit einem Eppendorf Flammenphotometer bestimmt.
Zur Messung des Natriums wurde das Serum 1 :200 verdünnt, und mit einem Eichstandard von 143,5 mval/l verglichen. Dabei wurde die Natriumlinie bei 589 nm als Filter benutzt.
Normalwerte: 135 -150 mval/l Serum.
Die Serum-Verdünnung zur Kaliummessung betrug 1 : 20, der verwendete Eichstandard wurde mit 3,84 mval/l angegeben und die Kalium-Linie bei 768 nm diente als Filter.
Normalwerte: 3,60 - 5,20 mval/l Serum.

2.6 Bestimmung von Kalium und Natrium im Urin:

Die Bestimmung erfolgte prinzipiell wie die Kalium- und Natrium-Bestimmung im Serum. Es wurden lediglich andere Verdünnungsverhältnisse für die Urinproben gewählt.

2.7 Statistische Auswertung:

Die Berechnung der Analysenergebnisse der Renin-Aktivität und Angiotensin-II-Konzentration wurden in einem programmierbaren Tischrechner HP 65 durchgeführt.
Für die Berechnung der Ergebnisse aus der Aldosteron-Bestimmung wurde die Rechenanlage des Rechenzentrums der Universität Düsseldorf (Direktor Professor Dr. Knop) benutzt.
Da die Eichkurve nicht linear dargestellt werden konnte, erfolgte die Berechnung über eine Spline-Function Analyse.
Die statistische Auswertung erfolgte ebenfalls mit der Rechenanlage des Rechenzentrums der Universität.
Benutzt wurde vorwiegend das Programmpaket SPSS (Statistical Programm for Social Science, 6. und 7. Version).
Die Daten wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft. Die Ergebnisse sind aus der Tabelle 3 zu entnehmen.
Entsprechend dem Ergebnis wurden parametrische oder nicht parametrische Test angewendet.
Der Einfluß der Furosemidgabe auf die Plasma-Renin-Aktivität, die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration, die Plasma-Aldosteron-Konzentration, die Kreatinin-Clearance und die Elektrolyte wurde mit dem Student-t-Test für verbundene Stichproben auf Signifikanz geprüft.

Tabelle 3

normal verteilt	nicht normal verteilt
Blutdruck syst., vor und nach Furosemid	Renin-Aktivität im Plasma vor und nach Furosemid
Blutdruck diast., vor und nach Furosemid	
Angiotensin-II-Konzentration vor und nach Furosemid	
Aldosteron-Konzentration vor und nach Furosemid	
Kreatinin im Serum vor und nach Furosemid	
Kreatinin-Clearance vor und nach Furosemid	
Kalium im Serum vor und nach Furosemid	
Natrium im Serum vor und nach Furosemid	
Kalium im Urin vor und nach Furosemid	
Natrium im Urin vor und nach Furosemid	

Tab. 3: Überprüfung der statistischen Verteilung.

3. Ergebnisse

Bei 20 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz in verschiedenen Stadien wurde ohne Diätvorschrift und ohne vorheriges Absetzen der medikamentösen Therapie vor und drei Stunden nach 40 mg Furosemid i. v. die Plasma-Renin-Aktivität, die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und die Plasma-Aldosteron-Konzentration im Serum bestimmt.
Ferner wurde Kalium, Natrium und Kreatinin im Serum und im Urin jeweils vor und nach Furosemid-Gabe ermittelt.

3.1 Plasma-Renin-Aktivität, Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und Plasma-Aldosteron-Konzentration unter dem Einfluß von Furosemid.

3.1.1 Plasma-Renin-Aktivität

Wie die Tabelle 4 zeigt, steigt die Plasma-Renin-Aktivität bei 17 von insgeamt 20 Patienten nach Furosemid-Gabe an. In einem Fall zeigt sich keine Konzentrationsänderung. Abbildung 1 veranschaulicht die Verläufe.
Die Plasma-Renin-Aktivität steigt dabei 3 Stunden nach Belastung im Mittel von 3,53 $\pm$ 1,18 ng/mlxh auf 5,41 $\pm$ 1,97 ng/mlxh um 1,88 ng/mlxh ($p=0,001$) an.
Zwei Patientinnen (Nr. 3 und 9) zeigen extrem hohe Ausgangswerte und eine gute Stimulierbarkeit. Bei der ersten Patientin ist eine maligne Hypertonie bekannt, bei der zweiten, ebenfalls hypertonen Patientin liegt der Nieren-Insuffizienz eine seit bereits zehn Jahren bekannte chronische Pyelonephritis zugrunde.
Die Plasma-Renin-Aktivität nach dem Test korreliert mit $r=0,935$ bei $p=0,00001$ mit der Plasma-Renin-Aktivität vor dem Test (Abb. 1).

3.1.2 Plasma-Angiotensin-II

Vierzehn von insgesamt 19 Patienten zeigen einen Anstieg der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration (Tab 4).

Die zwei Patientinnen, die die extrem hohen Renin-Aktiviäten aufweisen, zeigen auch die höchsten Plasma-Angiotensin-II Werte.

Die mittlere Plasma-Angiotensin-II-Konzentration steigt von 14,95 ± 2,68 pg/ml vor Furosemid-Gabe signifikant um 6,57 pg/ml auf 21,52 ± 6,01 pg/ml nach Furosemid an (p=0,003).

Die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration vor Furosemid korreliert bei r=0,75 und p 0,001 mit der Plasma-Renin-Aktivität vor Furosemid (Abb. 2).

Es zeigt sich keine signifikante Abhängigkeit zwischen der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration nach Furosemid und der Plasma-Angiotensin-Konzentration vor Furosemid.

Die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration nach Furosemid korreliert mit r=0,83 bei p=0,001 mit dem Plasma-Renin-Anstieg innerhalb der drei Stunden nach Furosemid. (Differenz der Plasma-Renin Aktivität nach und vor Furosemid)

Der Plasma-Angiotensin-II-Anstieg korreliert bei r=0,76 und p=0,001 mit dem Plasma-Renin-Anstieg.

3.1.3 Plasma-Aldosteron-Konzentration

Wie Tabelle 4 (Abb. 3) zeigt,läßt sich bei 19 von 20 Patienten durch Furosemid die Plasma-Aldosteron-Konzentration erhöhen.

Die Plasma-Aldosteron-Konzentration beträgt im Mittel vor dem Test 611,6 ± 128,4 pg/ml und steigt signifikant (p=0,001) um 701,2 pg/ml auf 1312,8 ± 265,5 pg/ml nach dem Test an.

Auch hier zeigen die Patienten Nr. 3 und 9 hohe Aldosteron-Werte. Patient Nr. 10 zeigt vor und nach Stimulation die höchsten Werte. Es handelt sich dabei um eine Nephrosklerose bei Arteriosklerose und bekanntem Diaetes mellitus.

Die Plasma-Aldosteron-Konzentration nach Furosemid korreliert mit r=0,79 bei p=0,001 signifikant mit der Plasma-Aldosteron-Konzentration vor dem Test.

3.2 Systolischer und diastolischer Blutdruck unter dem Einfluß von Furosemid

Wie Tabelle 5 (Abb. 4) zeigt, sinkt der mittlere systolische Blutdruck nach Furosemid von 159,8 ± 7,38 mmHg um 5,3 mmHg auf 154,5 ± 5,83 mmHg ab.
Der diastolische Blutdruck sinkt dabei von 102,3 ± 4,13 mmHg um 2,0 mmHg auf 100,3 ± 4,19 mmHg ab.
Dieser rechnerisch zwar signifikante Blutdruckabfall dürfte jedoch klinisch nicht relevant sein.
Der mittlere arterielle Blutdruck nach Furosemid korreliert mit r=0,906 und p=0,001 mit dem mittleren Blutdruck vor dem Test.

3.3 Kalium und Natrium im Serum unter dem Einfluß von Furosemid

Wie Tabelle 6 zeigt, liegt die Kaliumkonzentration im Serum vor dem Test im Mittel mit 4,31 ± 0,16 mval/l signifikant höher (p=0,001) als nach dem Test mit 3,95 ± 0,13 mval/l.
Die mittlere Natriumkonzentration im Serum liegt vor dem Test bei 140,40 ± 0,55 mval/l und ist nach dem Test mit 140,22 ± 0,69 mval/l nicht signifikant verändert (p 0,05).
Für beide Parameter zeigt sich keine signifikannte Abhängigkeit zur entsprechenden Plasma-Aldosteron-Konzentration.

3.4 Kalium und Natrium im Urin unter dem Einfluß von Furosemid

Die Kaliumkonzentration im Urin beträgt vor Furosemid 1,14 ± 0,12 mval/h und steigt nach Furosemid auf 2,51 ± 0,27 mval/l an.
Die mittlere Natriumkonzentration im Urin vor Furosemid beträgt 6,12 ± 1,44 mval/h und steigt drei Stunden nach Furosemid auf 27,70 ± 2,46 mval/h an.
Weder die Urin-Kalium- noch die Urin-Natriumkonzentration zeigt eine signifikannte Abhängigkeit zu anderen Parametern.

3.5 Kreatinin und Kreatinin-Clearance unter dem Einfluß von Furosemid.

Die mittlere Kreatinin-Konzentration im Serum sinkt von 4,22 ± 0,67 mg/100 ml vor Furosemid um 0,71 mg/100 ml

auf 3,51 ± 0,59 mg/100 ml nach Furosemid (p=0,001).Tab.8
Die Kreatinin-Clearance steig von 32,6 ml/Min. auf 56,6 ml/Min (p=0,003).
Es zeigt sich keine signifikante Korrelation zur Plasma-Renin-Aktivität oder Plasma-Aldosteron-Konzentration.

3.6 Der Einfluß des Geschlechts auf die Plasma-Renin-Aktivität, die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und die Plasma-Aldosteron-Konzentration.

Der Tabelle 9 kann man entnehmen, daß der mittlere Ausgangswert der Plasma-Renin-Aktivität bei den männlichen Patienten mit 1,86 ± 0,71 ng/mlxh signifikant niedriger liegt (p=0,003), als bei den weiblichen Patienten mit 5,19 ± 2,19 ng/mlxh.
Drei Stunden nach Furosemid-Gabe liegt die durchschnittliche Plasma-Renin-Aktivität bei den Männern mit 2,28 ± 0,59 ng/mlxh ebenfalls signifikant niedriger als bei den Frauen mit 8,54 ± 3,72 ng/mlxh (p=0,001).
Die mittlere Plasma-Angiotensin-II-Konzentration vor Furosemid liegt bei den Männern mit 11,32 ± 2,18 pg/ml signifikant niedriger als bei den Frauen mit 18,98 ± 4,93 pg/ml (p=0,036).
Nach dem Test liegt die mittlere Plasma-Angiotensin-II-Konzentration bei den Männern mit 12,54 ± 1,97 pg/ml ebenfalls niedriger als bei den Frauen mit 31,50 ± 12,00 pg/ml (p=0,001).
Für die Plasma-Aldosteron-Konzentration konnte kein signifikanter Geschlechtsunterschied ermittelt werden.

3.7 Der Einfluß der medikamentösen Therapie auf die Plasma-Renin-Aktivität, die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und die Plasma-Aldosteron-Konzentration

3.7.1 Beta-Blocker

Die Ergebnisse der therapierten und nicht therapierten Patienten gibt die Tabelle 10 wieder.
Für die Plasma-Renin-Aktivität und die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration läßt sich der Therapie-Effekt nicht sicher vom Geschlechtseinfluß trennen, da die Anzahl der männlichen und weibliche Patienten unter ß-Blocker-Therapie nicht ausgeglichen ist (5:1).

Für die Plasma-Aldosteron-Konzentration läßt sich ein erhöhter Plasmaspiegel vor und nach Furosemid-Gabe bei den mit ß-Blockern therapierten Patienten feststellen.
Die mittlere Plasma-Aldosteron-Konzentration vor Furosemid liegt mit 786,75 ± 293,2 pg/ml um 291,92 pg/ml über der Plasma-Aldosteron-Konzentration der nicht mit ß-Blockern behandelten Patienten mit 494,83 ± 88,9 pg/ml (p=0,005).
Nach Furosemid liegt die mittlere Plasma-Aldosteron-Konzentration bei den therapierten Patienten mit 1553,00 ± 588,43 pg/ml um 400,40 pg/ml höher, als bei den nicht therapierten Patienten mit 1152,60 ± 224,00 (p=0,025).
Diese signifikanten Unterschiede bestehen, obwohl aufgrund der Geschlechtsverteilung eher niedrigere Plasma-Aldosteron-Konzentration bei den ß-Blocker-therapierten Patienten zu erwarten gewesen wären.

3.7.2 Alpha-Blocker

Ein signifikanter Therapie-Effekt durch Alpha-Rezeptoren blockierende Substanzen zeigt sich für die Plasma-Renin-Aktivität (Tab. 11).
Vor Furosemid zeigen die mit Alpha-Blockern therapierten 7 Patienten (4 männlich, 3 weiblich) mit 2,03 ± 0,42 pg/mlxh eine signifikant niedrigere mittlere Plasma-Renin-Aktivität als die nich therapierten Patienten mit 4,34 ± 1,79 pg/mlxh (p=0,001).
Nach dem Test liegt die mittlere Plasma-Renin-Aktivität bei den mit Alpha-Blockern therapierten Patienten mit 2,61 ± 0,66 pg/mlxh ebenfalls signifikant unter der der therapierten Patienten mit 6,92 ± 2,96 pg/mlxh (p=0,001).

3.7.3 Digitalis-Therapie

Den Effekt der Digitalis-Therapie auf das Serum-Kreatinin zeigt Tabelle 12.
Die digitalisierten Patienten zeigen nach Furosemid-Gabe ein signifikant höheres Kreatinin (4,2 ± 0,73 mg/100 ml) als die nicht digitalisierten Patienten (1,73 ± 0,22 mg/100 ml).

Tabelle 4

Pat.-Nr.	vor Furosemid			nach Furosemid		
	PRA	PA-II-C	PAC	PRA	PA-II-C	PAC
	ng/ml x h	pg/ml	pg/ml	ng/ml x h	pg/ml	pg/ml
1	1,93	7,3	213	1,82	4,4	527
2	0,15	3,8	385	0,21	4,7	757
3	15,90	50,2	826	22,60	40,8	1081
4	1,60	6,2	546	1,90	7,4	388
5	1,40	10,0	161	2,60	15,8	671
6	1,00	9,7	212	2,50	12,0	508
7	1,10	23,0	467	2,90	23,7	1153
8	0,16	21,4	196	0,34	19,7	358
9	20,10	33,9	1242	36,60	122,5	2266
10	3,50	18,5	2236	3,70	29,7	5320
11	0,67	8,3	423	2,40	13,2	604
12	0,58	4,3	323	1,20	8,7	916
13	8,00	12,2	1993	1,30	14,5	2384
14	3,20	9,2	343	5,90	12,8	1638
15	2,00	4,3	393	6,90	10,4	2604
16	2,20	11,5	228	2.20	6,9	293
17	3,60	----	726	7,10	----	1227
18	1,70	23,3	391	3,20	25,7	2121
19	0,16	10,2	384	0,45	24,4	724
20	1,60	16,7	544	2,40	11,6	716
$\bar{x}$	3,53	14,95	611,6	5,41	21,52	1312,8
$s_{\bar{x}} \pm$	1,18	2,68	128,4	1,97	6,01	265,5

Tab. 4: Plasma-Renin-Aktivität, Plasma-Angiotensin-II Konzentration und Plasma-Aldosteron-Konzentration vor und nach Furosemid.

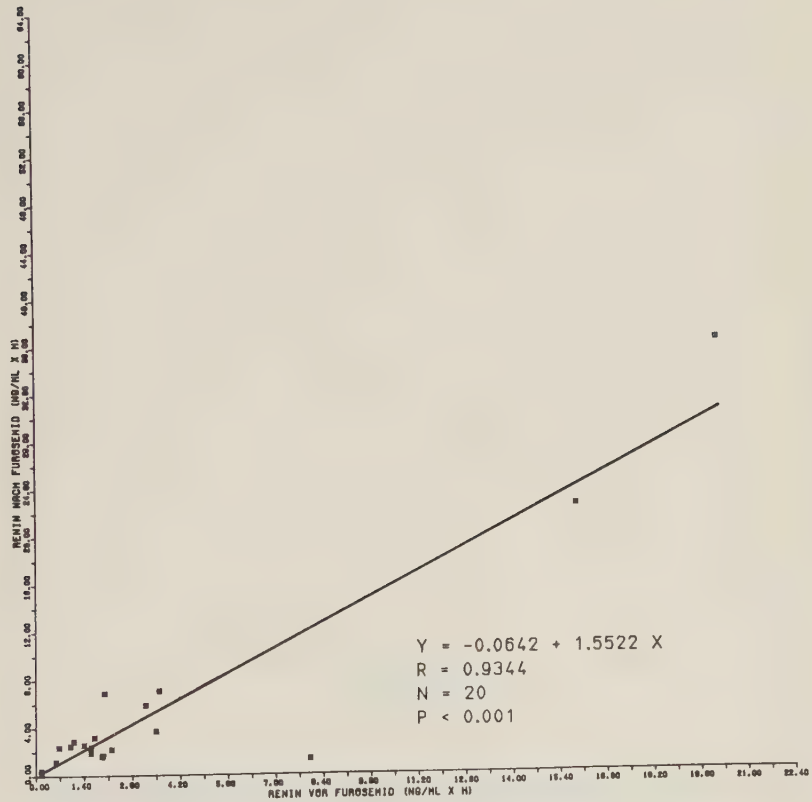


Abb. 1: Abhängigkeit der Plasma-Renin-Aktivität (ng/mlxh) 3 Stdn. nach Furosemid (Ordinate) von der Plasma-Renin-Aktivität vor Furosemid (Abszisse).

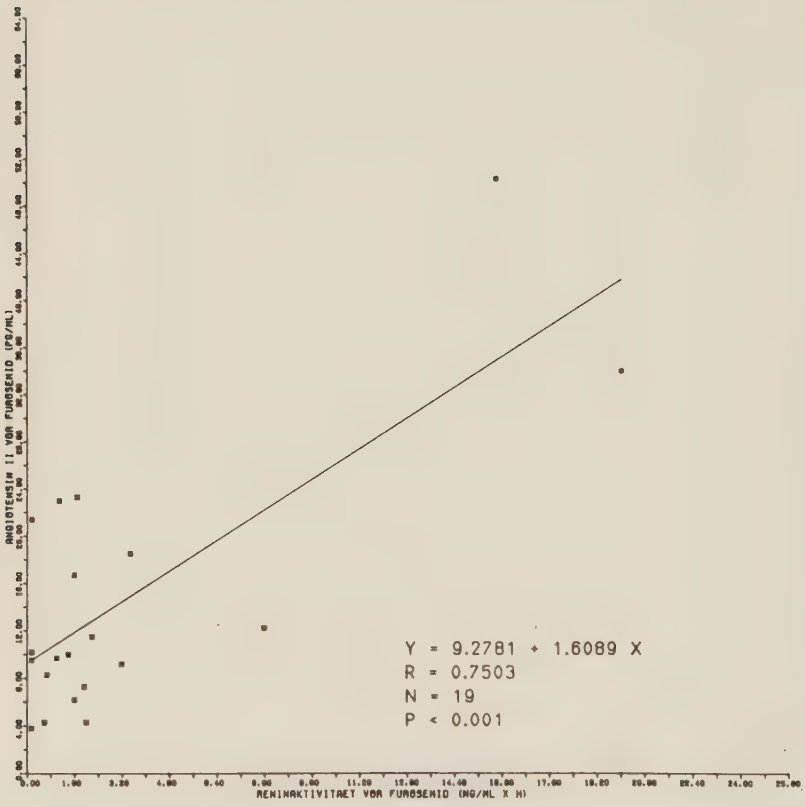


Abb. 2: Abhängigkeit der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration (pg/ml) vor Furosemid von der Plasma-Renin-Aktivität (ng/mlxh) vor Furosemid.

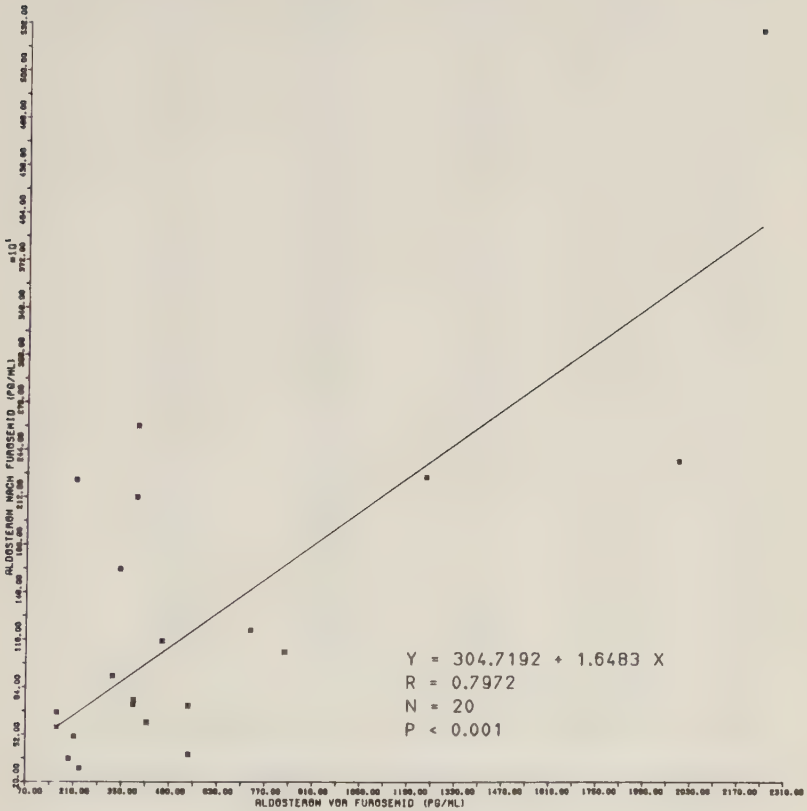


Abb. 3: Abhängigkeit der Plasma-Aldosteron-Konzentration (pg/ml) nach Furosemid von der Plasma-Aldosteron Konzentration (pg/ml) vor Furosemid.

Tabelle 5

Pat.-Nr.:	vor Furosemid RR syst. mmHg	vor Furosemid RR diast. mmHg	nach Furosemid RR syst. mmHg	nach Furosemid RR diast. mmHg
1	220	120	190	135
2	140	85	145	80
3	175	140	190	150
4	205	100	195	105
5	120	90	115	85
6	120	90	120	90
7	155	135	155	110
8	150	110	160	100
9	160	95	155	90
10	230	140	220	130
11	145	75	140	80
12	150	100	145	100
13	140	110	150	100
14	145	90	150	90
15	150	95	145	90
16	220	95	150	90
17	130	90	125	80
18	140	90	150	100
19	145	105	140	100
20	155	90	150	100
$\bar{x}$	159,8	102,3	154,5	100,3
$s_{\bar{x}} \pm$	7,4	4,1	5,8	4,2

Tab. 5: Systolischer und diastolischer Blutdruck vor und nach Furosemid-Gabe.

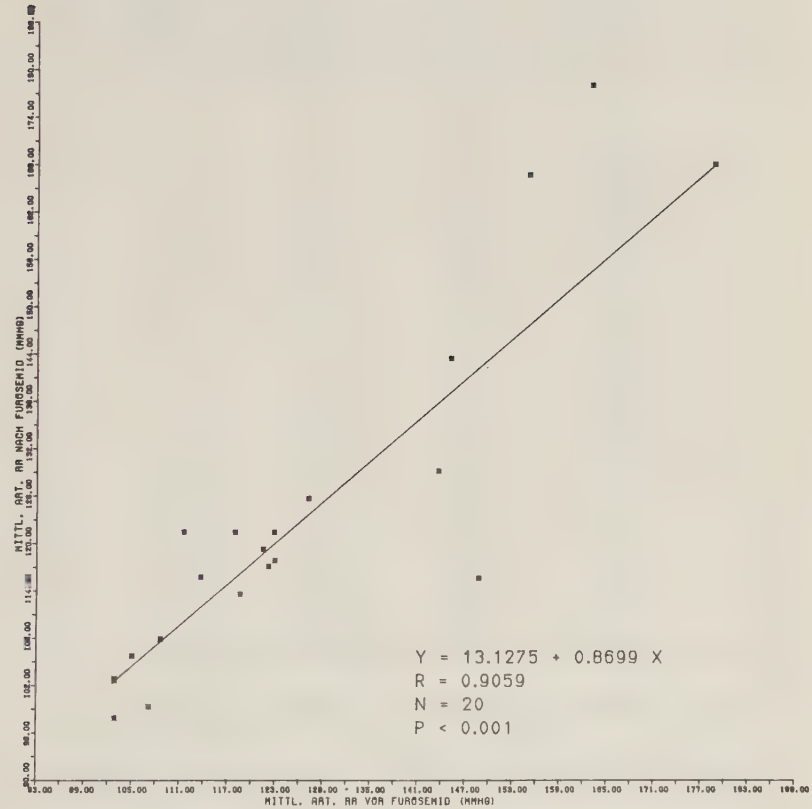


Abb. 4: Abhängigkeit des mittleren arteriellen Blutdrucks (mmHg) nach Furosemid vom mittleren arteriellen Blutdruck (mmHg) vor Furosemid.

Tabelle 6

Pat.-Nr.	vor Furosemid		nach Furosemid	
	K mval/l	Na mval/l	K mval/l	Na mval/l
1	3,9	146	3,7	137
2	6,2	141	---	---
3	3,4	140	3,3	142
4	4,8	143	---	---
5	4,0	141	3,5	138
6	4,5	142	4,5	145
7	4,3	142	3,6	138
8	3,9	143	3,8	142
9	3,9	141	3,8	138
10	3,6	138	3,6	138
11	4,1	138	4,4	138
12	5,6	140	4,8	142
13	4,5	141	4,7	143
14	3,6	136	3,4	147
15	3,5	138	3,5	140
16	3,7	139	3,4	138
17	4,5	142	4,9	141
18	5,1	136	4,4	136
19	4,8	141	4,1	140
20	4,3	140	3,7	141
$\bar{x}$	4,31	140,40	3,95	140,22
$s\bar{x} \pm$	0,16	0,55	0,13	0,69

Tab. 6: Kalium und Natrium im Serum vor und nach Furosemid-Gabe.

Tabelle 7

Pat.-Nr.:	vor Furosemid K mval/h	vor Furosemid Na mval/h	nach Furosemid K mval/h	nach Furosemid Na mval/h
1	---	---	1,1	10,0
2	1,7	9,5	1,7	20,0
3	1,5	11,8	3,2	25,0
4	---	---	1,9	32,3
5	2,2	10,5	3,5	50,7
6	1,0	6,5	2,8	43,3
7	1,4	6,0	2,0	16,3
8	1,7	3,5	6,3	52,7
9	0,2	5,1	1,1	33,3
10	1,5	4,7	3,3	27,0
11	0,7	1,5	3,5	31,3
12	0,4	3,6	1,1	19,0
13	1,0	8,5	2,2	28,7
14	0,4	2,5	1,3	22,7
15	0,8	4,6	1,6	17,0
16	1,0	6,8	2,2	21,3
17	1,3	3,1	3,0	25,7
18	0,8	4,4	2,1	27,7
19	1,3	7,8	3,1	20,3
20	1,5	9,8	3,0	29,7
$\bar{x}$	1,14	6,12	2,51	27,70
$s\bar{x} \pm$	0,12	1,44	0,27	2,46

Tab. 7: Kalium und Natrium in mval pro Stunde im 24-Std.-Urin vor Furosemid und im 3-Stunden-Urin nach Furosemid-Gabe.

Tabelle 8

Pat.-Nr.	vor Furosemid		nach Furosemid	
	Kreat. mg/100 ml	Kreat.-CL ml/Min.	Kreat. mg/100 ml	Kreat.-Cl ml/Min.
1	8,00	--	7,80	--
2	10,50	10	----	--
3	2,00	22	2,20	51
4	8,00	7	----	--
5	2,00	87	2,20	81
6	1,60	49	1,70	71
7	6,30	16	6,50	19
8	1,79	34	1,68	120
9	2,25	28	2,35	56
10	3,89	24	4,05	35
11	1,04	57	1,06	137
12	4,70	6	4,70	12
13	6,00	12	6,20	20
14	8,70	6	7,60	17
15	1,63	49	1,68	41
16	1,10	58	1,12	106
17	1,09	70	1,05	72
18	3,78	25	1,52	57
19	7,50	12	7,35	20
20	2,61	47	2,48	47
$\bar{x}$	4,22	32,58	3,51	56,59
$s\bar{x} \pm$	0,67	5,49	0,59	9,09

Tab. 8: Kreatinin im Serum und Kreatinin-Clearance vor und nach Furosemid-Gabe.

Tabelle 9

	Männer (n=10)			Frauen (n=10)			p
Renin vor F.	1,86	±	0,71	5,19	±	2,19	=0,003
Renin nach F.	2,28	±	0,59	8,55	±	3,72	<0,001

	Männer (n=10)			Frauen (n= 9)			p
Angiot. v.F.	11,32	±	2,18	18,98	±	4,93	=0,036
Angiot. n.F.	12,54	±	1,97	31,50	±	12,00	<0,001

	Männer (n=10)			Frauen (n= 9)			p
Aldost. v.F.	532,1	±	168,1	691,1	±	199,9	=0,614
Aldost. v.F.	1016,2	±	256,6	1609,4	±	460,7	=0,097

Tab. 9: Mittlere Plasma-Renin-Aktivität (ng/mlxh), Plasma-Angiotensin-II-Konzentration (pg/ml) und Plasma-Aldosteron-Konzentration bei Männern und Frauen im Vergleich, jeweils vor und nach Furosemid-Gabe.

Tabelle 10

Betablocker	nein	ja	p
	(n=12)	(n=8)	
Renin			
vor Furos.	4,32 ± 1,88	2,34 ± 0,94	=0,027
nach Furos.	7,68 ± 3,13	2,02 ± 0,70	<0,001
	(n=11)	(n=8)	
Angiotensin			
vor Furos.	16,79 ± 4,38	12,41 ± 2,12	=0,003
nach Furos.	26,10 ± 10,12	15,23 ± 3,17	=0,003
	(n=12)	(n=8)	
Aldosteron			
vor Furos.	494,83 ± 88,90	786,75 ± 293,20	=0,005
nach Furos.	1152,61 ±224,00	1553,00 ± 588,43	=0,025

Tab. 10: Einfluß der ß-Blocker-Therapie auf die Plasma-Renin-Aktivität (ng/mlxh), die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration (pg/ml) und die Plasma-Aldosteron-Konzentration (pg/ml) vor und nach Furosemid-Gabe.

Tabelle 11

Alphablocker	nein (n=13)	ja (n=7)	p
	(männlich: 6)	(männlich: 4)	
	(weiblich: 7)	(weiblich: 3)	
Renin			
vor Furos.	4,34 ± 1,79	2,03 ± 0,42	=0,001
nach Furos.	6,92 ± 2,96	2,61 ± 0,66	=0,001

Tab. 11: Einfluß der Alphablockertherapie auf die Plasma-Renin-Aktivität (ng/mlxh).

Tabelle 12

Digitalis	nein (n= 5)	ja (n=13)	p
Kreatinin im Serum n. Furosemid	1,73 ± 0,22	4,20 ± 0,73	=0,009

Tab. 12: Einfluß der Digitalistherapie auf die Kreatininkonzentration im Serum (mg/100 ml).

4. Diskussion

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System unter physiologischen Verhältnissen:

Das Renin-Angiotensin-System kann heute nicht mehr als der alleinige Stimulus der Aldosteronsynthese angesehen werden. Es wurden aufgrund neuerer Untersuchungen (BOYD, 1972; ROSS, 1975) eine Reihe weiterer Faktoren bekannt, die auf die Aldosteronsynthese und damit auf den Natrium- und Wasserhaushalt Einfluß nehmen können (MÜLLER, 1971).

Bei Normalpersonen bewirkt ein Natrium- und Volumen-Entzug durch forcierte Diurese einen Anstieg der Plasma-Renin-Akivität, der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und der Plasma-Aldosteron-Konzentration (PADFIELD, 1975; KÜPPERS, 1976).
Die verschiedenen Ansatzpunkte des Natriums im Regelsystem erschweren die Aufstellung von Gesetzmäßigkeiten. So konnte in Untersuchungen von BROWN (1966) und SCHRÖDER (1968) keine signifikante Korrelation zwischen der Plasma-Renin-Aktivität und der Natrium-Konzentration im Serum nachgewiesen werden.
BLAIR-WEST (1968) beschreibt dagegen einen direkten Effekt des Natriums auf die Aldosteron-Synthese unter Umgehung des Renin-Angiotensin-II-Systems.
Es ist ferner anzunehmen, daß eine verminderte Plasma-Natrium-Konzentration auch die Wirkung des Plasma-Angiotensin-II auf das Plasma-Aldosteron verstärkt (ROSS, 1960, KINSON, 1968).
Kalium übt wahrscheinlich ebenfalls einen direkten Effekt auf die Aldosteronsynthese aus (MÜLLER, 1971). Dabei führt Kalium-Entzug zu einer Verminderung der Aldosteronsynthese, Kalium-Retention dagegen führt zu einer Synthesesteigerung, wobei letztlich nicht geklärt ist, ob die intra- oder extrazelluläre Kaliumkonzentration wesentlich ist.
Die Regulation der Renin-Freisetzung in der Niere ist noch umstritten. Weder die Macula-densa-Theorie (VANDER, 1964), noch die Dehnungsrezeptor-Theorie (TOBIAN, 1960), beinhalten

eine umfassende Erklärung des Regelsystems.
EIGLER (1967) sieht als Stimulus der Reninfreisetzung nicht die intratubuläre Natrium-Konzentration ("Natrium-load"), sondern den Natrium-Konzentrationsgradienten zwischen Tubuluslumen der Niere und der intrazellulären Natrium-Konzentration an der Macula densa.
Der Einfluß des Angiotensin-II auf die Aldosteronsynthese wird unterschiedlich beurteilt.
Angiotensin-II wird unter normalen Bedingungen als der wichtigste Stimulator der Aldosteron-Synthese angesehen. Nur in Einzeluntersuchungen ist dieser Zusammenhang in Abrede gestellt worden. Dabei muß berücksichtigt werden, daß andere, die Aldosteron-Synthese beeinflussende Faktoren (Na,K,ACTH) den Einfluß des Angiotensin-II auf die Aldosteronsynthese moderieren können.
So erkennt ROSS (1960) in seinen Untersuchungen keinen stimulierenden Effekt von Angiotensin-II auf die Aldosteron-Synthese, während KINSON (1968) diese Abhängigkeit in seiner Arbeit beschreibt.

Eine genauere Aussage über die Steuerung der Aldosteronsynthese hoffte man nach Stimulation der Niere durch ein forciert wirkendes Diuretikum machen zu können (KAPLAN, 1976).
Neuere Untersuchungen (MOORE, LANDON, 1979) zeigen, daß Furosemid den aktiven Calcium-Transport an isolierten Zellmembranen und Membranen des Endoplasmatischen Reticulums der Niere verringert. Die Calcium-Aufnahme in die Zellmembran wird dabei gehemmt und die Natrium-Resorption in der Niere blockiert. Damit nimmt Calcium Einfluß auf den transepithelialen Natrium-Transport und die Volumenregulation der Zelle. Das Enzym des aktiven K/Na-Transports, die K/Na-ATPase, wird durch Furosemid scheinbar nicht beeinflußt. Es ist dagegen nicht sicher auszuschließen, daß Furosemid auch gleichzeitig oder anschließend den Chlorionen-Transport durch die Epithelien hemmt (DEGNAN et al., 1977).

Bei Untersuchungen des Renin-Angiotensin-II-Systems und der Einwirkung auf die Aldosteronsynthese müssen auch andere hormonale Einflüsse berücksichtigt werden.
OELKERS, SCHÖNESHÖFER, BLÜMEL (1974) und SCHNURR (1974) weisen darauf hin, daß Östrogen sowie Progesteron die Plasma-Renin-Aktivität stimulieren.
Das Plasma-Renin-Substrat wird signifikant unter der Gabe von kontrazeptiven Steroiden erhöht (BECKERHOFF, 1972; LARAGH, 1967). Daher wird die Plasma-Renin-Aktivität durch hormonelle Kontrazeption stimuliert (KAHLHAUSEN, 1976).
Dagegen stellte KAPLAN (1976) bei Normalpersonen 30 und 60 Min. nach 40 mg Furosemid intravenös eine signifikant niedrigere Plasma-Renin-Aktivität bei Frauen als bei Männern fest.

Weiterhin ist die Möglichkeit eines nervalen Einflusses auf die Aldosteron-Synthese und damit auf den Natrium- und Wasserhaushalt zu diskutieren.
MC DONALD et al. (1958) konnten zeigen, daß eine denervierte und transplantierte Nebenniere auf Natriumentzug prompt mit Aldosteron-Stimulation reagiert.
Andererseits kann jedoch durch die sympathische Innervation der Niere der circadiane Rhythmus der Reninsekretion und damit indirekt die Aldosteron-Synthese beeinflußt werden (ARMBRUSTER, 1975).
Der direkte stimulierende Effekt des ACTH auf die Aldosteron-Synthese ist schon seit längerem bekannt, der genaue Mechanismus jedoch noch ungeklärt (CRABBE, 1959, VENNING, 1956).
Es muß jedoch offen bleiben, ob die circadiane Rhythmik der ACTH-Freisetzung und der Renin-Sekretion nicht von den gleichen Faktoren gesteuert oder beeinflußt werden.

Da die bisher untersuchten Patienten mit manifester Niereninsuffizienz fast ausnahmslos antihypertensiv behandelt werden, müssen therapiebedingte Einflüsse auf das Renin-Angiotensin-System und die Aldosteronsynthese berücksichtigt werden.
Unter der Therapie mit Beta-Rezeptoren-Blockern werden auch die intramuralen Beta-Rezeptoren geblockt. Dadurch

wird die Renin-Sekretion supprimiert. Dieser Effekt wäre durch die Sympathikushemmung erklärbar (PETTINGER et al., 1976, GEYSKES et al., 1976).
MC ALLISTER et al. (1971) weisen darauf hin, daß bei kombinierter Hypertonie-Therapie die Plasma-Aldosteron-Konzentration trotz Senkung der Plasma-Renin-Aktivität nicht vermindert ist. Hier ist dann ein Überwiegen anderer, die Aldosteron-Synthese stimulierende Faktoren zu diskutieren.

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System bei der chronischen Niereninsuffizienz:

WEIDMANN et al. (1973) weisen darauf hin, daß bei der chronischen Niereninsuffizienz das Plasma-Angiotensin-II das Plasma-Aldosteron nicht mehr stimuliert.
Hier scheinen andere, bereits erwähnte Faktoren für die Aldosteron-Stimulation verantwortlich zu sein.
Im fortgeschrittenen Stadium der chronischen Niereninsuffizienz mit ausgeprägten Störungen im Natrium- und Wasserhaushalt ist ein wesentlicher Einfluß der Niere auf den Natrium-Haushalt nicht wahrscheinlich (SCHNURR, 1976).
Damit entfällt die Niere als Erfolgsorgan des Plasma-Aldosterons weitgehend und eine Wirkung des Aldosterons auf die Natrium-Bilanz scheint generell in diesem Krankheitsstadium eine untergeordnete Rolle zu spielen.
Bei der chronischen Niereninsuffizienz findet sich ein verminderter Gesamt-Kalium-Bestand bei jedoch normalem oder nur leicht erhöhtem Serum-Kalium-Spiegel.
SCHNURR (1976) sieht im Kalium selbst eine der wichtigsten Regelgrößen der Aldosteron-Sekretion bei der Niereninsuffizienz.
SCHALEKAMP (1973) gibt an, daß bei Niereninsuffizienz die Plasma-Renin-Aktivität unabhängig von der Höhe des austauschbaren Natriums ist. Diese Aussage stimmt mit Ergebnissen anderer Autoren aus Untersuchungen an Normalpersonen überein.
Auch eine Änderung des Natrium-Bestandes oder des Wasserhaushaltes, z. B. durch Hämodialyse oder Natrium-Retention, zeigt keinen Effekt auf die Plasma-Renin-Aktivität.

Bei der chronischen Niereninsuffizienz ist die ACTH-Konzentration gegenüber Normalpersonen deutlich erhöht (HRUBESCH, 1973). Die Ursache dafür könnte z. B. in der fehlenden Rückkopplung zwischen Glucocorticoidspiegel und diencephalem ACTH-Releasing Hormon, oder in der verminderten Wirkung des ACTH auf die Nebennierenrinde liegen.
Ebenso gilt die stimulierende Wirkung des ACTH auf die Aldosteron-Sekretion bei Niereninsuffizienten als nicht gesichert (SCHNURR, 1976).

In dieser vorgelegten Untersuchung liegen die Basalwerte bei der chronischen Niereninsuffizienz für die Plasma-Renin-Aktivität ca. fünfmal höher, für die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration nahezu dreimal höher und für die Plasma-Aldosteron-Konzentration ca. sechsmal höher als die von KÜPPERS et al. (1976) angegebenen Normalwerte für die beschriebenen Methoden.
Fast alle Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zeigen einen Anstieg der Plasma-Renin-Aktivität, der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und der Plasma-Aldosteron-Konzentration nach forcierter Diurese. Bei keinem der Patienten fehlt die Stimulierbarkeit in allen drei Parametern.
Diese Ergebnisse zeigen, daß auch bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ein Volumenentzug mit Kalium- und Natrium-Verlust durch einen weiteren Anstieg der ohnehin schon erhöhten Werte für die Plasma-Renin-Aktivität, die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und die Plasma-Aldosteron-Konzentration beantwortet werden kann.
Ein statistisch signifikannter Zusammenhang läßt sich nur für die Plasma-Renin-Aktivität und die Plasma-Angiotensin-II-Konzentration nachweisen.
Die Plasma-Aldosteron-Konzentration korreliert nicht mit der Plasma-Renin-Aktivität oder der Plasma-Angiotensin-II Konzentration, während dies bei Normalpersonen nachweisbar ist.
Eine der Ursachen für die erhöhten Aldosteron-Konzentrationen im Plasma von Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz liegt, unabhängig vom Renin-Angiotensin-System, in dem gestörten Metabolismus des Aldosterons bei diesem Krankheitsbild.

Durch den partiellen Ausfall der Niere als Stoffwechsel- und Ausscheidungsorgan werden Aldosteron-Abbauprodukte, wie z. B. das 18-oxo-Glucuronid, vermindert ausgeschieden und die Aldosteronsynthese durch retinierte Substanzen, z. B. Kalium, zusätzlich stimuliert (COPE, PEARSON 1963).

Bei fast allen Patienten lag das Serum-Kalium und das Serum-Natrium vor und nach Furosemid im Normbereich. Ein signifikanter Einfluß der Serum-Kalium- und Serum-Natrium-Konzentration auf die Plasma-Renin-Aktivität, die Plasma-Angiotensin-II Konzentration oder die Plasma-Aldosteron-Konzentration zeigte sich nicht.
Die von SCHNURR (1976) unter Hämodialyse beschriebene Korrelation zwischen Serum- Kalium und Plasma-Aldosteron-Konzentration im Stadium der terminalen Niereninsuffizienz läßt sich in der jetzigen Untersuchung nicht feststellen.
Die hier untersuchten Patienten unterscheiden sich aufgrund der eingeschränkten Nierenleistung zwar deutlich von Normalpersonen, andererseits ist das urämische Stadium noch nicht erreicht. In diesem Zwischenstadium scheint weder der Einfluß des Renin-Angiotensin-Systems auf die Aldosteron-Synthese von großer Bedeutung zu sein, noch ist die beschriebene Abhängigkeit der Aldosteron-Synthese vom Kalium ausgeprägt.

Unter Betablocker-Therapie sind die Werte der Plasma-Renin-Aktivität und der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration niedriger als in der Vergleichsgruppe ohne Therapie.
Diese Ergebnisse stimmen mit bereits beschriebenen Untersuchungen an Normalpersonen überein. Jedoch können die Daten aufgrund der nicht ausgewogenen Geschlechtsverteilung innerhalb einer Gruppe nur mit Vorbehalt gewertet werden.
Es zeigte sich außerdem unter der Therapie mit ß-Blockern eine signifikant höhere basale Aldosteron-Konzentration, sowie eine höhere Aldosteronkonzentration nach Furosemid-Gabe.

Dieses Ergebnis unterstreicht, daß eine enge Korrelation zwischen dem Renin-Angiotensin-System und der Plasma-Aldosteron-Synthese bei der chronischen Niereninsuffizienz nicht zu bestehen scheint.
MC ALLISTER (1971) konnte nach Untersuchungen bei Patienten

mit maligner Hypertonie ebenfalls keine signifikannte Korrelation zwischen dem Renin-Angiotensin-System und der Aldosteron-Synthese erkennen.

Unter Alphablockertherapie lag die basale Plasma-Renin-Aktivität und die Plasma-Renin-Aktivität nach Furosemid signifikant niedriger als in der Vergleichsgruppe mit Patienten ohne Therapie.
Die Therapie mit Medikamenten aus der Gruppe der Alpha-Blocker und Beta-Blocker zeigt bei Niereninsuffizienten den gleichen renin-supprimierenden Effekt wie bei Normalpersonen.

5. Schlußfolgerung

Bei der chronischen Niereninsuffizienz ohne Berücksichtigung der verschiedenen Stadien bewirkt Natrium- und Volumenentzug durch forcierte Diurese eine Stimulation der Plasma-Renin-Aktivität, der Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und der Plasma-Aldosteron-Konzentration bei nahezu konstantem Serum-Kalium und Serum-Natrium.
Eine enge Korrelation zwischen dem Renin-Angiotensin-System und der Aldosteronsynthese scheint dabei nicht vorzuliegen.
Eine Abhängigkeit des Plasma-Aldosterons vom Plasma-Kalium, wie sie unter Dialyse-Bedingungen beschrieben wurde, bestätigt sich bei den Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz nicht.
Da trotz Volumenverlust über die Niere die Serum-Natrium-Konzentration konstant bleibt, muß vermutet werden, daß das ausgeschiedene Natrium letztlich aus anderen Flüssigkeitsräumen als dem Intravasalraum stammt.
Durch derartige Elektrolyt- und Volumenverschiebungen wird das Renin-Angiotensin-System sowie die Aldosteronsynthese stimuliert, ohne dabei als Regulativ wirksam zu werden.
Die voneinander unabhängige Sekretion von Renin und Aldosteron im Stadium der chronischen Niereninsuffizienz bestätigt die anfängliche Vermutung, daß hier Rückkopplungen und damit Regulationen nicht vorhanden sind.
Es muß offen bleiben, welche Faktoren die Aldosteron-Synthese stimulieren und wie oder wo das Aldosteron bei der Niereninsuffizienz wirksam wird.

6. Zusammenfassung

1. Plasma-Renin-Aktivität, Plasma-Angiotensin-II-Konzentration und Plasma-Aldosteron-Konzentration sind bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz deutlich erhöht und lassen sich durch Gabe eines Diuretikums weiter stimulieren.

2. Eine Korrelation des Plasma-Aldosterons mit dem Plasma-Angiotensin-II, mit dem Serum-Kalium und mit dem Serum-Natrium läßt sich nicht feststellen.
   Deshalb scheint der Einfluß von Angiotensin-II und Kalium auf die Aldosteronsynthese nur gering zu sein.

3. Ein Renin- und Angiotensin-supprimierender Effekt unter ß-Blocker-Therapie, wie er bei Normalpersonen beschrieben wird, konnte auch bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz festgestellt werden.

7. Literatur

ABRAHAM, G. E.: Radioimmunoassay in biological fluids.
Clin. Biochem., 7, 193, 1974.

ARMBRUSTER, H., VETTER, W., BECKERHOFF, R., NUSSBERGER, J., NETTER, H., SIEGENTHALER, W.: Diurnal variations of plasma aldosterone in supine man: relationship to plasma renin activity and plasma cortisol.
Acta Endocrinol. (Kbh.), 80, 95, 1975.

ATTMAN, P.O., AURELL, M., JOHNSON, G.: Effects of metoporol and propanolol on furosemide-stimulated renin release in healthy subjects.
Eur. Clin. Pharmacol., 8, 201-204, 1975.

AYRES, P. J., GARROD, O., PEARLMAN, W. H., TAIT, S.A.S., TAIT, J.F., WALKER, G.: The use of (16 3H)-aldosterone in studies on human peripheral blood.
Ciba Fdn. Colloq. Endocrin., 11, 309, 1957.

BERETTA-PICOLLI, C., WEIDMAN, P., DE CHATEL, R., REUBI, F.,:Hypertension associated with early stage kidney disease. Complementary roles of circulating renin, the body sodium, volume state and duration of hypertension.
Am. J. Med., 61, 739-47, 1976.

BECKERHOFF, R., LUETSCHER, J.A., WILKINSON, R., GONZALES, C., NOKES, G.W.: Plasma renin concentration, activity, and substrate in hypertension induced be oral contraception.
J. Clin. Endocrinol. Metabol., 34, 1067-1073, 1972.

BECKERHOFF, R.,VETTER, W., NUSSBERGER, J., SIEGENTHALER, W.: Immunbiologische Bestimmungen von Renin und Angiotensin.
In: Lang, H., Rick, W., Roka, L.,(Herausgeber): Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1975.

BERSON, S.A., YALOW, R.S.: General principles of radio-immunoassay.
Clin. Chim. Acta, 22, 51-69, 1968.

BLAIR-WEST, J. R. COGHLAN, J. P., DENTON, D. A., GODING, J. R., WINTOUR, M., WRIGHT, R. D.: The effect of nephrectomy on aldosterone secretion in the conscious sodium depleted hypophysectomized sheep.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 46, 295,1968.

BOUCHER, R., VEYRAT, R., DE CHAMPLAIN, J. and GENEST, J.: New procedures for measurement of human plasma, angiotensin and renin activity levels.
Can. Med. Assn.,90, 194-201,1964.

BOYD, G.W., ADAMSON, A.R.,ARNOLD, M.,JAMES, V.H.T. and PEART, W.S.: The role of angiotensin II in the control of aldosterone in man.
Clin. Sci., 42, 91, 1972.

BRICKER, N.S.: On the pathogenesis of the uremic state: An exposition of the "trade-off" hypothesis.
N. Engl. J. Med., 286, 1093-1099, 1972.

BROWN, J.J., DAVIES, D.L.,: The relationship between plasma renin concentration, sodium balance, and aldosterone in physiological and pathological situations in man.
Expansion Sci. Francaise, 1, 141, 1966.

BUDDECKE, E.: Grundriss der Biochemie., De Gruyter Verlag, Berlin, New York, 1977.

CAIN, M. C., COGHLAN, H. P., CATT, K.J.:
Clin. Chim. Acta, 39, 21, 1972.

CHEVRU, L.R., LORY, M., LIANG, T., LEE, H.B, BLAUFOX, M.D.: Determination of plasma renin activity by radioimmuno-assay: Comparison of results from two commercial kits with bioassay.
J. Nucl. Med., 13, 806-810, 1972.

COPE, C.L., PEARSON, J.: Aldosterone secretion in renal failure.
Clin. Sci., 25, 331, 1963.

CRABBE, J., REDDY, W.J., ROSS, E.J., THORN, G.W.: The stimulation of aldosterone secretion by adrenocorticotropic hormone (ACTH).
J. Clin. Endocrinol. 19, 1185, 1959.

DAVIS, J.O., HARTCROFT, P.M., TITUS, E.O., CARPENTER, C.J., AYERS, C.R., SPIEGEL, H.E.: The role of the renin angiotensin-system in the control of aldosterone secretion.
J. Clin. Invest., 41, 378, 1962.

DEGNAN, K. J., ZADUNAISKY, J. A.: The electrical properties and active ione transport across the urinary bladder of the urodeles Amphiuma means.
J. Physiol. (London), 265, 207, 1977.

DÜSTERDIECK, G., MC ELWEE: Estimation of angiotensin II concentration in human plasma by radioimmunoassay. Some applications to physiological and clinical states.
Europ. J. Clin. Invest., 2, 32-38, 1971.

EIGLER, F.W.V.: Regulierung von Glomerulumfiltrat und arteriellem Blutdruck durch den Natriumgradienten an den Macula-densa-Zellen.
Klin. Wschr. 45, 23, 1967.

FYHRQUIST, F., SOVERI, P., PUUTULA, L., STENMAN, U.H.: Radioimmunoassay of Plasma Renin Activity.
Clin. Chem., 22, 250, 1976.

GANONG, W.F., ALPERT, L.C., LEE, I.C.: ACTH and the regulation of adrenocortical secretion.
N. Engl. J. Med., 290, 1006, 1974.

GEYSKES, G.G., BOER, P., VOS, J., LEENEN, F.H.H., DOORHOUT-MEES, E.J.: Effect of Salt Depletion and Propanolol on Blood Pressure and Plasma Renin Activity in Various Forms of Hypertension.
Circ. Res. Suppl. I, 36/37, 248-256, 1976.

GIANOTTI, P., MANELLI, M., FIORELLI, G., SERIO, M.:
J. Nuclear Biol. Med., 16, 104, 1972.

GOLDBERG, S.D., SPIERTO, F.W.: Plasma Renin Activity: A Method for rapid Screening by Radioimmunoassay and a Comparison of two Commercially Available Kits.
Clin. Chem. 19, 1396, 1973.

GROSS, F., BRUNNER, H., ZIEGLER, M.: Renin-angiotensin system, aldosterone, and sodium balance.
Recent Progr. Horm. Res., 21, 119, 1965.

HABER, E.; KOERNER, T., PAGE, L.B., KLIMAN, B., PURNODE, A.: Application of a Radioimmunoassay for Angiotensin-I to the Physiological Measurement of Plasma Renin Activity in Normal Human Subjects.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 29, 1349, 1969.

HUGHES, D., WILLIAMS, R.E., SMITH, A.H.: Clinical studies on whole body potassium content measured by gamma-ray spectrometry in health and disease.
Clin. Sci., 32, 503, 1967.

HRUBESCH, M., WAGNER, H., BÖCKEL, K., GROTE, G., WENNING N., ADAMS, M., LOEW, H.: Störungen der Hypophysenfunktion bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz unter intermittierender Haemodialyse.
Vortrag 9. Symp. Ges. Nephrol., 19.-22.9.1973/Basel.

JAFFE, B.M., BEHRMAN, H.R.: Methods of Hormone Radio-immunoassay.
Academic Press, New York, Londen, 1974.

KAPLAN, N. M. et al.: The intervenous furosemide test: A simple way to evaluate renin responsiveness.
Am. intern. Med., 84, (6), 639-45, 1976.

KAULHAUSEN, H.,KLINGSIEK, L., BREUER, H.: Veränderungen des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems unter contrazeptiven Steroiden.
Fortsch. Med.,94, 1925-30, 1976.

KINSON, G.A. and SINGER, B.: Sensivity to angiotensin and adrenocorticotropic hormone in the sodium deficient rat.
Endocrinology, 83, 1108, 1968.

KLIMAN, B., PETERSON, R,F.: Double isotope derivate assay of aldosterone in biological extracts.
J. Biol. Chem., 235, 1693, 1960.

KORNERUP, H.J.: Hypertension in end-stage renal disease. The relationship between blood pressure, plasma renin substrate and exchangeable sodium in chronic haemodialysis patienbts.
Acta. Med. Scand., 200, 257-61, 1976.

KOTCHEN, T.A., FLAMENBAUM, W., CIRKSENA, W., GAMBLE, W.: Comparison of a biological and immunological assay for the measurement of plasma renin activity.
J. Clin. Endocrinol. Metabol., 36, 804-810, 1973.

KRAUSE, D.K., HUMMERICH, W., POULSEN, K.: Radioimmunoassay Renin-angiotensin.
Georg Thieme Publishers, Stuttgart, 1978.

KÜPPERS, H., WIESEN, K., SCHNURR, E., GRABENSEE, B.: Angiotensin-Bestimmung im Plasma.
Med. Welt, 27, 2286-2288,1976.

LARAGH, J.H., SEALEY, J.E., LEDINGHAM, J.G.G., NEWTON, M.A.: Oral contraceptives. Renin, aldosterone, and high blood pressure.
J. Am. Med. Ass., 201, 918-922, 1967.

LUETSCHER, J.A., Jr. and AXELRAD, B.J.: Increased aldosterone output during sodium deprivation in normal men.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 87, 650, 1954.

LUETSCHER, J;A., Jr. and CURTIS, R.H.: Aldosterone: observation on the regulation of sodium and potassium balance.
Am. intern. Med., 43, 458, 1955.

MARIEB, N.J. and MULROW, P.J.:Role of angiotensin system in the regulation of aldosterone secretion in the rat.
Endocrinology, 76, 657, 1965.

MC ALLISTER, R.G., VAN WAY, C.W., DAYANI, K., ANDERSON, W.J., TEMPLE, E., MICHELAICIS, A.M., COPPAGE, W.S., OATES, J.A.: Malignant hypertension: effect of therapy on renin and aldosterone.
Circ. Res. 28, Suppl. 2, 160, 1971.

MC DONALD, J.R., GODING, J.R. and WRIGHT, R.D.: Transplantation of the adrenal gland of the sheep to provide access to its blood supply.
Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 36, 83, 1958.

MOOLENAAR, A. J.: A new method for the colorimetric determination of aldosterone in urine.
Acta endocrinol. (Copenh.), 25, 161, 1957.

MOORE, L., LANDON, E.: The reversable inhibition of renal microsome calcium pump by furosemide.
Life Sci., 25, 1929-1034, 1979.

MÜLLER, J.: Regulation of aldosterone biosynthesis.
Monogr. Endocrinol. Vol. 5, Springer Verlag, Beril,
Heidelberg, New York, 1971.

NEHER, R., WETTSTEIN, A.: Physochemical detection and
measurement of aldosterone in body fluids and tissues.
Acta endocrinol. (Copenh.), 18, 386, 1955.

OELKERS, W., SCHÖNESHÖFER, M., BLÜMEL, A.: Effects of
progesterone and four synthetic progestagens on
sodium balance and the renin-aldosterone system
in man.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39,882-890, 1974.

OPARIL, S., KATHOLI, R.: Renin, Annual Research Reviews,
Eden Press Inc, Montreal, Vol. 3, Chapter 16.

OPARIL, S.,HABER, E.: The renin-angiotensin system.
N. Engl. J. Med., 291, 389-401, 446-457, 1974.

OPARIL, S., KOERNER, T.J., HABER, E.: Effects of pH and
enzyme inhibitors on apparent generation of
angiotensin I in human plasma.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 39, 965-968, 1974.

PETTINGER, W. A., KEETON, T.K., CAMPBELL, W.B.,
HARPER, D.C.: Evidence for a renal alpha-adrenergic
receptor inhibiting renin release.
Circ. Res., 38, 338-46, 1976.

ROSS, E.J. and MC LEAN, E.K.: Excretion of aldosterone
stimulating hormone in urine.
Acta endocrin. (Copenh.), Suppl., 51, 69, 1960.

ROSS, E.J.: Aldosterone and Aldosteronism.
Lloyd-Luke Ltd., S.170, 1975.

Peptidase activity of carrier proteins used in radio-immunoassay.
J. Nucl. Med., 15, 557-560, 1974.

SCHNURR, E.: Ein Störfaktor beim Radio-Immuno-Assay des Urin-Aldosterons.
J. Chromatogr., 84, 165, 1973.

SCHNURR, E., SCHRÖDER, E.: Eine vereinfachte Methode zur Bestimmung der Aldosteron-Stimulierung.
Med. Welt, 24, 689, 1973.

SCHNURR, E., HOFMANN, K., GRABENSEE, B., SCHRÖDER, E.: Die Wirkung von Clonidin, Glucosteroiden und Ovulationshemmern auf Reninsubstrat und Renin im Plasma.
In: Hypertension, ed. by H. Distler, H. P. Wolff, Thieme Verlag, Stuttgart, 1974, p. 297.

SCHNURR, E.: Der Einfluß der Hämodialyse auf die Plasma-Aldosteron-Konzentration. Ein Beitrag zur Frage der Aldosteron-Regulation im Stadium der terminalen Niereninsuffizienz.
Habilitationsschrift, Düsseldorf, 1976.

SCHRÖDER, E.: Beziehungen zwischen Plasma-Renin, Hochdruck und Natrium im Plasma und in den Erythrozyten.
Deutsche med. Wschr., 93, 13, 1968.

SCHRÖDER, E.: Klinische Untersuchungen zur Regulation der Renin-Sekretion. Mit einem Beitrag zur Renin-Renin-Substratkinetik.
Habilitationsschrift Düsseldorf 1969.

SMITH, I.K.: The role of renin in renal failure associated with hepatic failure.
Postgrad Med. J., 51, 506-8, 1975.

Aktivität nach Propanolol bei essentieller und renaler Hyprtonie.
Klin. Wschr., 53, 629, 1975.

TAIT, J. F., SIMPSON, S.A.S., GRUNDY, H.M.: The effect of adrenal extract on mineral metabolism.
Lancet 1, 122, 1952.

THURAU, K., SCHERMANN, J.: Die Natriumkonzentration an den Macula densa Zellen als regulierender Faktor für das Glomerulumfiltrat (Mikropunktionsversuche).
Klin. Wschr., 43, 410, 1965.

TOBIAN, L.: Interrelationships of electrolytes, juxtaglomerular cells and hypertension.
Physiol. Rev., 40, 280, 1960.

VANDER, A.J., MILLER, R.,: Control of renin secretion in the anaesthetized dog.
Am. J. Physiol., 207, 537, 1964.

VENNING, E. H., DYRENFURTH, J., BECK, J. D.: Effect of corticotropin and prednisone on the excretion of aldosterone in man.
J. Clin. Endocrinol. 16, 1541, 1956.

VETTER, W. et al.: Control of plasma aldosterone in terminal renal failure before and after nephrectomy and after renal transplantation.
Clin. Nephrol., 6, 433-36, 1976.

WEIDMANN, P.M., MAXWELL, H, LUPU, A.N.: Plasma aldosterone in terminal renal failure.
Ann. Intern. Med., 78, 13, 1973.

WERNING, C.: Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System.
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1972.

Herrn Professor Dr. med. Schnurr möchte ich für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit herzlich danken.

Lebenslauf

Am 15. März 1951 in Schwelm/Westf. geboren.
Besuch der Grundschule in Schwelm von 1957 bis 1961.
Nach sechsjährigem Besuch der Realschule Schwelm erlangte ich 1967 den Realschulabschluß.
Nach einem Krankenhauspraktikum im Klinikum Wuppertal-Barmen begann ich 1969 die viersemestrige Ausbildung als medizinisch-technischer Assistent der staatlichen Lehranstalt für med.-techn. Assistenten in Wuppertal.
Abschluß der Berufsausbildung 1971.
Seit 1971 besuchte ich berufsbegleitend das Städtische Abendgymnasium in Wuppertal und erlangte 1974 die allgemeine Hochschulreife.
1975 Immatrikulation an der Universität Düsseldorf in den Fächern Medizin und Psychologie.
Staatsexamen für das Fach Medizin in Düsseldorf voraussichtlich April 1981.